

Preferencias de oviposición y
alimentación, parámetros
poblacionales y dinámica temporal de
Rachiplusia nu (Lepidoptera:
Noctuidae), en girasol y soja bajo
distintos escenarios ecofisiológicos



Directores:

Dr. Eduardo Trumper y Dra. Patricia Pereyra

Institución:

Facultad de Ciencias Naturales y Museo -
Universidad Nacional de La Plata

Trabajo de tesis para optar al título de
Doctor en Ciencias Naturales



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA



Facultad de Ciencias
Naturales y Museo

Año: 2019

Autor:

*Adriana
Saluso*

Dedicado a mis padres, Adriana y José

A mamá por transmitirme la pasión por la entomología, por escucharme, por aconsejarme y por compartir cada logro de mi vida profesional...

A papá por inculcarme el respeto por el trabajo y por darme fuerzas en los momentos difíciles...



AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Eduardo Trumper por la dedicación brindada, por la excelente disposición, por la generosidad en transmitirme sus conocimientos y por acompañarme en esta etapa de mi formación académica.

A la Dra. Patricia Pereyra por su calidez y paciencia, por su apoyo permanente y por sus valiosas sugerencias que mejoraron sustancialmente la redacción de la tesis.

Al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) por financiar mi formación de postgrado y a los Directores de la EEA Paraná por permitirme realizar mis investigaciones en el campo experimental y en el Laboratorio de Entomología.

A mi amiga Ale por todo el tiempo dedicado a ayudarme con los análisis estadísticos. Sin sus conocimientos y su tenacidad no hubiera sido posible interpretar los resultados de los ensayos.

A mi amiga Ceci por sostenerme y alentarme en muchos momentos complicados de la vida.

A mis amigos y compañeros de trabajo, Leo y Octavio por colaborar en el diseño de los ensayos.

A mis hermanos Jose, Luis y Esteban, a Patricia y a mis tres hermosos sobrinos, Vicky, Lucky y Tomy que con sus sonrisas me acarician el alma....

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS.....	V
ÍNDICE DE TABLAS	VII
Prefacio.....	VIII
Resumen.....	X
Abstract	XIV
CAPÍTULO I. Introducción General	18
1. Agroecosistema. Desarrollo, expansión e intensificación agrícola pampeana.	19
2. Artrópodos plaga y su manejo en el escenario agrícola argentino	23
3. <i>Rachiplusia nu</i> (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae)	25
3.1 Distribución geográfica y plantas hospedantes	25
3.2 Aspectos morfológicos, biológicos y de comportamiento	26
3.3 Daños e impacto económico	27
3.3.1 En el cultivo de soja	27
3.3.2 En el cultivo de girasol	29
3.4 Investigaciones sobre <i>Rachiplusia nu</i> desarrolladas en Argentina	30
CAPÍTULO II. Preferencia de oviposición de <i>Rachiplusia nu</i> (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae) en cultivos puros e intercultivo de soja y girasol.....	35
Introducción	36
Materiales y Métodos.....	48
Resultados.....	62
Discusión	72
CAPÍTULO III. Preferencia de oviposición y desempeño de las larvas de <i>Rachiplusia nu</i> alimentadas con hojas de girasol y soja en condiciones semicontroladas	79
Introducción	80
Materiales y Métodos.....	89
Resultados.....	103
Discusión	108
CAPÍTULO IV. Efecto de la dieta de las hembras de <i>Rachiplusia nu</i> sobre el desempeño de su descendencia	117
Introducción	118
Materiales y Métodos.....	124
Resultados.....	131
Discusión	139
CAPÍTULO V. Influencia de la alimentación de larvas de <i>Rachiplusia nu</i> sobre la relación entre su desarrollo y la temperatura.....	144
Introducción	145
Materiales y Métodos.....	152
Resultados.....	156
Discusión	164

CAPÍTULO VI. Discusión y Conclusión General.....	172
Discusión	173
Conclusiones	180
BIBLIOGRAFÍA CITADA	182

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Evolución de la superficie sembrada (millones de ha) de girasol, soja, maíz y trigo en la Argentina durante el periodo 1996-2017.	21
Figura 1.2. Composición porcentual según el número de especies de las Familias botánicas hospedantes de <i>R. nu</i> citadas para Argentina.	26
Figura 2.1. Esquema del arreglo espacial en intercultivo y cultivos puros.	50
Figura 2.2. A: Intercultivo girasol-soja en etapas vegetativas; B: Cultivo puro de soja en estado vegetativo y C: Cultivo puro de girasol en periodo reproductivo.	51
Figura 2.3. Esquema del experimento en el ciclo agrícola 2009.	52
Figura 2.4. Esquema de los experimentos en el ciclo agrícola 2010.	52
Figura 2.5. Técnica de corte del foliolo central de una hoja de soja.	53
Figura 2.6. Técnica de corte de una hoja de girasol.	53
Figura 2.7. Esquema de una hoja/foliolo mostrando la división en los cuadrantes analizados (I al IV).	54
Figura 2.8. Disposición de las costillas y área micropilar de un huevo de <i>Rachiplusia nu</i>	55
Figura 2.9. Densidad media de huevos (número de huevos.cm ⁻²) (± E.E.) por cultivo y sistema de cultivo en los muestreos realizados durante el primer ciclo agrícola (2009).	62
Figura 2.10. Densidad media de huevos (número de huevos.cm ⁻²) (± E.E.) por cultivo y sistema de cultivo en los muestreos realizados durante el segundo ciclo agrícola (2010) y primera fecha de siembra.	63
Figura 2.11. Densidad media de huevos (número de huevos.cm ⁻²) (± E.E.) por cultivo y sistema de cultivo en los muestreos realizados durante el segundo ciclo agrícola (2010) y segunda fecha de siembra.	64
Figura 2.12. Fluctuación en la densidad de huevos de <i>R. nu</i> .cm ⁻² para cada ciclo agrícola desde el primer muestreo hasta el último.	65
Figura 2.13. Densidad media de huevos.cm ⁻² (± E.E.) en cultivos puros de girasol y soja y en intercultivo girasol x soja, en las 3 fechas de siembra.	67
Figura 2.14. Cantidad de huevos de <i>R. nu</i> (%) (± E.E.) en haz y envés de las hojas de girasol y foliolos de soja en cada uno de los ciclos agrícolas.	68
Figura 2.15. Densidad media de tricomas.cm ⁻² (± E.E.) en haz y envés en foliolos de soja y hojas de girasol.	71
Figura 3.1. Tubos de apareamiento para <i>R. nu</i>	89
Figura 3.2. A: Recipientes plásticos para la cría de las orugas. B: larva de <i>R. nu</i> alimentándose de dieta artificial.	90
Figura 3.3. Máculas dorsales de color amarillo presentes en los especímenes machos de <i>R. nu</i>	91
Figura 3.4. Ejemplar adulto de <i>R. nu</i> mostrando la banda cenicienta grisácea, más notoria en machos que en hembras.	91
Figura 3.5. Jaula de vuelo (A), interior de la jaula donde se observan los floreros con los foliolos de soja (B) y con las hojas de girasol (C).	94
Figura 3.6. Cuatro jaulas de vuelo donde se realizaron los experimentos de selección del sitio de oviposición con hembras de <i>Rachiplusia nu</i>	95

Figura 3.7. A: Interior de una jaula de vuelo mostrando los floreros con los diferentes tratamientos; B: folíolos de soja sin estrés hídrico (izquierda) y con estrés hídrico (derecha); C: hojas de girasol con estrés hídrico (izquierda) y sin estrés hídrico (derecha).	96
Figura 3.8. Recipientes plásticos utilizados en el experimento (A), larva de <i>R. nu</i> alimentándose de hojas de girasol (B), unidades de alimentación de girasol (C) y de soja (D).	99
Figura 3.9. Balanza de precisión utilizada para pesar las pupas de <i>R. nu</i> y vista del plato de acero inoxidable sobre el cual se encuentra la pupa.	99
Figura 3.10. Densidad media de huevos.cm ⁻² (\pm D.E.) de <i>R. nu</i> registrados en las pruebas de No Elección (A) y Elección (B) del sitio de oviposición.	103
Figura 3.11. Tasa de desarrollo de <i>R. nu</i> (valores sin transformar a rangos alineados) en los períodos larval (A), pupal (B) y total (C), de acuerdo al tipo de alimento ingerido por las larvas.	106
Figura 3.12. Peso de las pupas de <i>R. nu</i> (g) (media \pm E.E.) machos y hembras cuyas larvas se alimentaron de folíolos de soja o de hojas de girasol.	107
Figura 4.1. Esquema simplificado de los experimentos de efectos maternos. G1: generación 1, parental y G2: generación 2, filial.	126
Figura 4.2. Tasas de desarrollo (variable transformada a rangos alineados) (media e intervalo de confianza) larval (A), pupal (B) y total (C) (larval + pupal) de la generación filial (G2) de acuerdo al alimento consumido.	135
Figura 4.3. Peso de las pupas (g) de hembras y machos de la generación parental de acuerdo al alimento consumido en la etapa larval.	136
Figura 4.4. Peso de las pupas (g) de machos y hembras de la segunda generación de acuerdo al alimento consumido por las larvas en la generación parental y en la progenie	137
Figura 5.1. Larvas de <i>R. nu</i> que no alcanzaron a desarrollarse a una temperatura promedio de 35,05°C.	156
Figura 5.2. Tasas de desarrollo termodependiente (día ⁻¹) (\pm E.E.) para cada alimento y periodo de desarrollo: larval (A); pupal (B) y total (C).	158
Figura 5.3. Tasa de desarrollo termodependiente (día ⁻¹) ajustada por regresión no lineal al Modelo de Brière I según fuente de alimento y periodo de desarrollo. A: periodo larval; B: periodo pupal y C: periodo total.	162

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1 Información referida a los muestreos realizados en cada ciclo agrícola (2009 y 2010).	55
Tabla 2.2. Estadístico de prueba (χ^2) y valor de p asociado para cada efecto fijo considerado en el modelo lineal generalizado mixto.	66
Tabla 2.3. Modelos de regresión de Poisson para los efectos cultivo (girasol, soja), posición (haz, envés) y sección (I, II, III, IV) en el número de huevos/1000 hojas ajustados para cada fecha de siembra.	68
Tabla 2.4. Prueba de hipótesis secuenciales para los efectos cultivo (girasol, soja), posición (haz, envés) y sección (I, II, III, IV) en el número de huevos/1000 hojas.	69
Tabla 2.5. Estadístico de prueba χ^2 y valor de p asociado para los parámetros β_3 (sección I), β_4 (sección II) y β_5 (sección III) de acuerdo al modelo de regresión de Poisson para cada fecha de siembra.	69
Tabla 2.6. Contraste de hipótesis entre los parámetros β_3 (sección I), β_4 (sección II) y β_5 (sección III) de acuerdo al modelo de regresión de Poisson para cada fecha de siembra.	70
Tabla 2.7. Prueba T para la densidad media de tricomas.cm ⁻² en haz y envés de las hojas de girasol y folíolos de soja.	71
Tabla 3.1. ANAVA para la densidad media de huevos.cm ⁻² de <i>R. nu</i> (\pm E.E.) según cultivo y condición, en la prueba de elección del sitio de oviposición.	104
Tabla 3.2. ANAVA para los factores alimento y sexo (anidado dentro del alimento) en relación a los tres periodos de desarrollo de <i>R. nu</i> .	105
Tabla 4.1. Tasa de desarrollo (día ⁻¹) (media \pm E.E.) de la primera generación de <i>R. nu</i> correspondiente a distintas etapas de desarrollo de acuerdo al alimento consumido en el periodo larval.	131
Tabla 4.2. Tasa de desarrollo (día ⁻¹) (media \pm E.E.) de la segunda generación de <i>R. nu</i> correspondiente a distintas etapas de desarrollo de acuerdo al alimento.	133
Tabla 4.3. Análisis de la varianza con diseño anidado y contraste de rangos alineados, ilustrando el efecto de la dieta de dos generaciones sucesivas, sobre la tasa de desarrollo en tres diferentes etapas.	134
Tabla 4.4. Porcentaje de individuos de la generación filial de <i>Rachiplusia nu</i> que alcanzaron la etapa adulta (supervivencia), según el tipo de alimento consumido por las larvas.	138
Tabla 5.1. Mortalidad (%) según sustrato alimenticio (girasol o soja), para cada una de las temperaturas promedio evaluadas.	156
Tabla 5.2. Tabla de Análisis de la varianza para los efectos tipo de alimento (girasol y soja) y temperatura (covariable) sobre la tasa de desarrollo, correspondientes a los periodos larval, pupal y total.	159
Tabla 5.3. Tasa de desarrollo media corregida por el efecto de la temperatura y E.E., en relación al tipo de alimento ingerido por las larvas de <i>R. nu</i> , correspondientes a los periodos larval, pupal y total.	159
Tabla 5.4. Valores medios (\pm E.E.) de los coeficientes y parámetros de desarrollo termodependiente estimados por análisis de regresión no lineal al modelo de Brière I para cada periodo de desarrollo de <i>R. nu</i> , según diferentes fuentes de alimento.	163
Tabla 5.5. Intervalo de confianza (95%) para la diferencia de valor de los parámetros T_0 y T_L del Modelo de Brière I estimados con los datos provenientes de cada tipo de alimento consumido por las larvas de <i>R. nu</i> , para los periodos larval, pupal y total.	163

PREFACIO

La tesis se dividió en seis capítulos. Los capítulos II al V siguieron la misma estructura: Introducción, Objetivos, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión.

En el Capítulo I se describen las características de la producción agrícola de la región pampeana argentina, el proceso de agriculturización y la evolución de los cultivos de soja y girasol, con énfasis en las estadísticas agrícolas de Entre Ríos. Se analiza la incidencia de los artrópodos plaga como factores bióticos limitantes de los cultivos, en el encuadre del Manejo Integrado de Plagas. A continuación, se detallan aspectos básicos relacionados con la distribución, biología, hospedantes y daños de *Rachiplusia nu*. Luego, se sintetizan todas las investigaciones desarrolladas en Argentina en relación a este lepidóptero.

El Capítulo II se enmarca en la hipótesis de *oviposición óptima* y propone el estudio de la capacidad selectiva de la hembra de *R. nu*, cuando dispone, en forma simultánea, de dos de sus hospedantes. Se discuten las ventajas del sistema de intercultivo girasol-soja, como estrategia cultural en la reducción de la oviposición, en comparación con los respectivos cultivos puros. En otra escala de análisis, se aborda la relación entre la densidad y ubicación de los tricomas foliares y la preferencia de oviposición de *R. nu*.

En el Capítulo III se analiza la influencia del contenido hídrico de las hojas de girasol y soja en la preferencia de oviposición de *R. nu*, en condiciones semicontroladas. Se pone a prueba la hipótesis de *preferencia de oviposición-desempeño de descendientes*, en términos de tasas de desarrollo larval, pupal y total y el peso de las pupas, conforme al tipo de alimento (girasol o soja) consumido por las larvas.

La calidad del alimento constituye el efecto del ambiente que normalmente se asocia al control materno, por lo que en el Capítulo IV se abordan los efectos de la dieta de los progenitores en el desempeño de su progenie, a partir del concepto de “*efectos maternos*”. Se discuten sus implicancias en esquemas de siembra que incluyen más de una especie hospedante de *R. nu*.

En el Capítulo V se estudia la interacción de diferentes temperaturas y de distintos alimentos en la duración de las etapas de desarrollo de *R. nu*. Se analiza si las diferencias proporcionales de tasas de desarrollo entre distintas fuentes

alimenticias son las mismas a diferentes temperaturas, lo que se enmarca en el principio de tasa de desarrollo isomórfica. Se ajusta el modelo no lineal de Brière I para comparar el desarrollo termodependiente de *R. nu* en relación al sustrato alimenticio.

En el Capítulo VI se discuten los principales resultados obtenidos en esta tesis. Los aspectos abordados, preferencia de oviposición-desempeño de la progenie, efectos maternos y desarrollo termodependiente se vinculan con el sistema propuesto de intercultivo girasol-soja, como práctica cultural para el manejo sustentable de *R. nu*, en el contexto de la intensificación agrícola.

Finalmente se expone la bibliografía consultada, la cual se ordenó alfabéticamente por el apellido del primer autor, considerando las normas establecidas por la Sociedad Entomológica Argentina (www.seargentina.com.ar/revista).

RESUMEN

La relación entre insectos herbívoros y sus plantas hospedantes puede sufrir alteraciones de acuerdo a las características del sistema productivo. Desde hace unas décadas el cultivo de soja representa el componente principal del paisaje en la estación estival, en la región pampeana. Como consecuencia de ello, los fitófagos asociados a la soja, encuentran una elevada oferta y disponibilidad de alimento. Para disminuir la incidencia de los insectos plaga se proponen estrategias que incorporen mayor diversidad vegetal como los intercultivos, dos o más cultivos que superponen todo o parte de su ciclo. En comparación con los monocultivos, los intercultivos podrían desarrollar mayores rendimientos por un uso más eficiente de los recursos y por una posible reducción de los factores bióticos adversos. El intercultivo de soja con girasol constituye una alternativa al cultivo puro de soja. En Entre Ríos ambos cultivos son hospedantes de *Rachiplusia nu* (Lepidoptera: Noctuidae), especie polífaga, conocida vulgarmente como “oruga medidora”. En el escenario de intercultivo girasol-soja podría acentuarse la capacidad selectiva de *R. nu* al tener disponible en una misma área y en forma simultánea ambos cultivos hospedantes. A otra escala de análisis, la densidad de tricomas podría explicar la preferencia de oviposición de las hembras de *R. nu* por alguna de las superficies foliares. La *hipótesis de preferencia de oviposición-desempeño de los descendientes (HPD)* afirma que las hembras tienen un comportamiento de selección del hospedante tal que maximizan su eficacia biológica a través de la maximización del desempeño de su progenie, pero la correlación entre preferencia y desempeño ocurre solo en algunos casos estudiados. La dieta parental también puede tener efectos sobre el desempeño de la siguiente generación. Este fenómeno se lo conoce como *efectos maternos* y se lo conceptualiza como el efecto que el fenotipo o el ambiente de la madre (o de los padres) tiene sobre el fenotipo de la descendencia. Esos efectos maternos pueden influir por ejemplo en el tiempo de desarrollo. En los insectos, la temperatura del cuerpo no está regulada internamente, por lo que sus tasas metabólicas dependen directamente de la temperatura del ambiente donde viven. Por lo tanto la temperatura es uno de los factores que mayor influencia tiene en el comportamiento, tasa de desarrollo, capacidad de alimentarse, supervivencia, reproducción, fenología y distribución. En general los efectos de la temperatura y de la calidad del alimento son examinados individualmente, pero sus efectos pueden ser diferentes cuando se evalúan simultáneamente. Por otro lado, se ha postulado que a diferentes temperaturas, se mantienen las mismas diferencias proporcionales de tasas de desarrollo entre distintas dietas, principio conocido como *tasa de desarrollo isomórfica*. Por todo lo expuesto, la presente tesis tuvo como

objetivos: 1. Evaluar la preferencia de oviposición de hembras de *R. nu* en intercultivo soja-girasol y en los respectivos cultivos puros, en condiciones naturales; 2. Relacionar la ubicación preferencial de los huevos de *R. nu* con la densidad de tricomas en las hojas de girasol y en los folíolos de soja; 2.1. Evaluar si existen diferencias en el número de tricomas por unidad de área foliar en el haz respecto del envés dentro de cada cultivo: girasol y soja; 2.2. Determinar si la proporción de tricomas en las hojas de girasol difiere de la proporción de tricomas en los folíolos de soja. 3. Analizar la preferencia de oviposición de *R. nu* frente a girasol y soja; 4. Determinar la influencia del contenido hídrico de las hojas de girasol y soja en la capacidad selectiva de las hembras; 5. Evaluar el desempeño, en cuanto al desarrollo larval, supervivencia y peso de las pupas de *R. nu*, en relación al alimento consumido.; 6. Relacionar la preferencia de oviposición de *R. nu* en condiciones semicontroladas con el desempeño de la descendencia, de acuerdo al alimento consumido por las larvas. 7. Evaluar la incidencia de la dieta materna de *R. nu* sobre la tasa de desarrollo y el peso pupal de la descendencia. 8. Determinar la influencia de la alimentación de larvas de *R. nu* con soja y girasol sobre la relación entre la temperatura y el desarrollo larval, pupal y total. Las metodologías utilizadas se describen a continuación. Objetivos 1 y 2: se condujeron experimentos en la EEA Paraná del INTA. Se consideraron tres tratamientos: (i) cultivo puro de soja; (ii) cultivo puro de girasol; (iii) intercultivo girasol-soja, con un arreglo espacial de un surco de girasol y dos surcos de soja, con tres y cuatro réplicas en las campañas agrícolas 2008/2009 y 2009/2010, respectivamente. Cada 7 o 10 días, se extrajeron 100 folíolos de soja y 50 hojas de girasol por unidad experimental. Se registraron las siguientes variables: número de huevos de *R. nu*, su ubicación, distribución en cuatro cuadrantes y las dimensiones (ancho y largo) para determinar el área foliar. La densidad de tricomas se determinó mediante el recuento del número de pelos en discos de 0,5 cm de diámetro extraídos ($n=105/\text{cultivo}$) en microscopio estereoscópico. Los datos experimentales se analizaron mediante modelos lineales y generalizados mixtos, asumiendo una distribución Poisson. Para determinar si la proporción de tricomas difirió entre cultivos se efectuó una Prueba de Hipótesis para diferencias entre dos proporciones. Objetivos 3, 4, 5 y 6: Se realizaron pruebas de no elección con dos tratamientos (5 floreros con soja y 5 con girasol) y cuatro réplicas y pruebas de elección con cuatro tratamientos (hojas con y sin estrés hídrico de girasol y de soja) y cuatro réplicas. Se realizó ANAVA y las medias se compararon a través del Test de Duncan ($\alpha<0,05$). El desempeño se evaluó mediante el registro del tiempo de desarrollo larval, pupal y total y el peso de las pupas. Los datos se analizaron a través de un ANAVA luego de transformar la variable a Rangos Alineados. Objetivo 7. En condiciones controladas se desarrollaron dos generaciones,

la parental con dos tratamientos (dieta G: girasol y S: soja; n=65) y la filial con cuatro tratamientos (G-G, G-S, S-S y S-G; n=90). Se registraron duración de los periodos larval, pupal y total y peso de las pupas. Para la primera generación los datos se analizaron mediante la Prueba de Mann Whitney y para la filial, una ANAVA, luego de la transformación a Rangos Alineados. Objetivo 8. Se realizaron 5 ensayos, uno por cada temperatura promedio lograda 19,7; 24,2; 28,0; 31,8 y 35,0°C. En cada unidad experimental se registró la duración de los periodos larval, pupal y total. Se realizó un análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis con las diferencias proporcionales de tasas de desarrollo del periodo total (larval + pupal) entre las dos dietas, a diferentes temperaturas. Para conocer si existe un efecto combinado de la temperatura y la fuente de alimento en la tasa de desarrollo de *R. nu*, se procesaron los datos mediante análisis de varianza. Se estimó el desarrollo termodependiente de *R. nu* en relación al sustrato alimenticio a través del modelo no lineal de Brière I. Se identificaron diferencias significativas entre las fechas de siembra de los 2 ciclos agrícolas ($\chi^2=11,562$, $p=0,004$). La densidad de huevos de *R. nu* no fue afectada por el sustrato de oviposición (girasol y soja) dentro de cada sistema de cultivo (puros versus intercultivos) ($\chi^2=4,903$, $p=0,092$) como así tampoco por el sistema de cultivo dentro de cada fecha de siembra ($\chi^2=1,931$, $p=0,386$). En términos de preferencia *R. nu* no manifestó un comportamiento de desove diferencial cuando tuvo posibilidades de elegir entre dos plantas hospedantes, girasol y soja. En dos de las tres fechas de siembra consideradas se registró un número más elevado de huevos en intercultivo que en cultivos puros, pero con diferencias estadísticas significativas solo en el último periodo evaluado ($t=2,662$, $p=0,009$). En girasol y en soja, los huevos de *R. nu* se ubicaron predominantemente en la cara inferior de la hoja, coincidente con la mayor densidad de tricomas. Los porcentajes promedios de huevos en el haz de las hojas de girasol y soja fueron 16 y 11%, respectivamente, mientras que en el envés dichos porcentajes fueron 84% para girasol y 89% para soja. En girasol y en soja existieron diferencias significativas en el número de tricomas.cm⁻² en el haz respecto del envés ($t=-16,573$; $p<0,001$; $t=-27,612$; $p<0,001$). En el haz de las hojas de girasol se registró un 13% menos de pelos.cm⁻² que en el envés, mientras que en soja, esta diferencia fue más acentuada. La proporción de tricomas en el haz de las hojas de girasol fue diferente a la proporción de tricomas en el haz de los folíolos de soja ($Z_p: 31,24 > Z_c: 1,96$). En ambas pruebas de elección del sitio de oviposición, *R. nu* prefirió colocar sus huevos en las hojas de girasol y en aquellas que no presentaron síntomas de estrés hídrico ($F=25,89$; $p<0,001$ y $F=20,82$; $p=0,001$). El desempeño de las larvas fue mejor cuando utilizaron como fuente alimenticia girasol en lugar de soja. La tasa de

desarrollo de *R. nu* fue entre 6 y 20% superior cuando las larvas se alimentaron de girasol, en comparación a la tasa de desarrollo de aquellas larvas que crecieron sobre folíolos de soja. La proporción de individuos que sobrevivieron fue la misma para las larvas que se alimentaron de girasol o de soja ($\chi^2 = 0,5415$; $P = 0,4618$). El peso de las pupas, que durante la etapa larval se alimentaron de hojas de girasol, fue entre 8 y 25% superior con respecto al peso pupal de aquellas que consumieron folíolos de soja ($F=155,66$; $p<0,001$; g.l.= 1). Estos resultados coinciden con las predicciones de la HPD. En la primera generación, el alimento incidió significativamente sobre la tasa de desarrollo larval ($W=1538,0$; $p<0,0001$) y total ($W=1633,5$; $p<0,0001$). Se comprobó el efecto materno de la dieta en el desempeño de la descendencia. La tasa de desarrollo de las larvas de la generación filial (G2) que consumieron hojas de girasol, provenientes de progenitores alimentados con girasol, fue un 13% superior a la tasa registrada para aquellos individuos que se alimentaron de folíolos de soja. Se observó que el alimento consumido por los progenitores, durante la etapa larval, tuvo un efecto significativo sobre las tasas de desarrollo de los periodos larval, pupal y total de su progenie. El alimento consumido por los progenitores tuvo un efecto significativo sobre el peso de las pupas de la descendencia ($F=54,4$; $p<0,001$). *R. nu* completó su desarrollo desde larva neonata a adulto en todas las temperaturas evaluadas, excepto a la temperatura promedio de 35,0°C. Las diferencias proporcionales de tasas de desarrollo entre ambos sustratos alimenticios no se conservaron a las cuatro temperaturas evaluadas, por lo que no tuvo lugar la tasa de desarrollo isomórfica. El tipo de alimento ingerido por las larvas de *R. nu* y la temperatura afectaron las tasas de desarrollo de los periodos larval, pupal y total. Los umbrales térmicos inferiores y superiores fueron diferentes para los periodos larval, pupal y total de acuerdo a la fuente de alimento. Al nivel de confianza trabajado no existieron diferencias entre los parámetros del Modelo de Brière I. Los resultados obtenidos en esta tesis permitieron conocer que el intercultivo girasol-soja no sería la mejor estrategia cultural para disminuir el impacto de *R. nu* porque: (I) La combinación de dos hospedantes de *R. nu* como integrantes de la asociación favorece la oviposición, en comparación con los respectivos cultivos puros. (II) El mejor desempeño en girasol se traduce en menor tiempo de desarrollo y mayor peso de las pupas. (III) En concordancia con la teoría de los efectos maternos, este sistema beneficia el desempeño de generaciones consecutivas de *R. nu*. Para valorar la relevancia de la diversidad vegetal en la dinámica de *R. nu*, además de los conocimientos aportados en esta tesis, se requiere estudiar en forma conjunta otros aspectos que intervienen en la toma de decisiones de los fitófagos, en relación a la utilización de los recursos en los agroecosistemas.

ABSTRACT

The relationship between herbivorous insects and their host plants may undergo alterations according to the characteristics of the productive system. For some decades, soybean crop has been the main component of the landscape during the summer season in the Pampa region in Argentina. Consequently, phytophagous insects associated to soybean find a high food availability. To decrease the incidence of pest insects, strategies are proposed that provide higher plant diversity such as intercropping; two or more crops overlapping partially or through their whole cycle. In comparison to single crop, intercropping may develop higher performances due to a more efficient use of resources and to a possible reduction in adverse biotic factors. The intercropping of soybean and sunflower constitutes an alternative to the soybean alone. In Entre Ríos, both crops are hosts to *Rachiplusia nu* (Lepidoptera: Noctuidae), a polyphagous species, commonly known as “semi-looper”. In a sunflower-soybean intercropping scenario, the selective ability of *R. nu* may be enhanced as a result of having simultaneously both host crops available in a single area. At another level of analysis, the density of trichomes could explain the preference of oviposition by *R. nu* females for some of the foliar surfaces. The *oviposition preference and offspring performance hypothesis (PPH)* postulate that females should have a behavior of host selection that enhances their fitness through the maximization of their offspring performance. However, the correlation between preference and performance occurs only in some studied cases. Parental diet may also produce effects on the performance of the next generation. This phenomenon is known as *maternal effect* and is defined as the effect the phenotype or maternal (or parental) environment has on the offspring phenotype. These maternal effects may influence, for instance, the developmental times. In insects, body temperature is not regulated internally, so their metabolic rates depend directly on the environmental temperature where they inhabit. Therefore, temperature is one of the factors most influencing behavior, development rate, feeding capacity, survival, reproduction, phenology and distribution. In general, the effects of temperature and food quality are examined individually, but their effects could be different when evaluated simultaneously. On the other hand, it has been put forward that at different temperatures, the same proportional differences of development rates maintain between different diets, a principle known as *rate isomorphy*. Because of all this information that has been presented here, this thesis has the following aims: 1. To evaluate oviposition preference of *R. nu* females in soybean-sunflower intercropping and in the respective crops alone, in natural conditions; 2. To relate the preferential location of *R. nu* eggs with the trichome density in sunflower leaves and soybean

leaflets; 2.1. To establish if there are differences in the number of trichomes by leaf area unit in the adaxial surface in regard to the abaxial surface within each crop: sunflower and soybean; 2.2. To determine if the ratio of trichomes in sunflower leaves diverges from the ratio of trichomes in soybean leaflets. 3. To analyze the oviposition preference of *R. nu* before sunflower and soybean; 4. To determine the influence of the water content of sunflower and soybean leaves on the selective capacity of females; 5. To evaluate the performance of *R. nu* in terms of larval development and survival, and weight of the *R. nu* pupae in relation to the food consumed; 6. To relate the preference of *R. nu* oviposition in semi-controlled conditions with the performance of the offspring, according to the food consumed by the larvae; 7. To assess the incidence of the *R. nu* maternal diet on the rate of development and the pupal weight of the offspring; 8. To determine the influence of *R. nu* larvae being fed with soybean and sunflower on the relationship between temperature and larval, pupal and total development. The methodologies used are described next. Aims 1 and 2: experiments were conducted at the Paraná Experimental Agricultural Station (EEA Paraná) of INTA (National Agricultural Technology Institute). Three treatments were considered: (i) sole soybean cropping; (ii) sole sunflower cropping; (iii) sunflower-soybean intercropping, with a spatial arrangement of a sunflower row and two soybean rows, with three and four repetitions in the 2008/2009 and 2009/2010 agricultural cycle, respectively. Every 7 to 10 days, 100 soybean leaflets and 50 sunflower leaves were extracted from each experimental unit. The following variables were recorded: number of *R. nu* eggs, their location, distribution in four quadrants and the dimensions (length and width) to determine the leaf area. Trichome density was determined by counting the number of hairs in extracted disks with 0.5 cm of diameter ($n=105/\text{crop}$) with a binocular microscope. Experimental data were analyzed using a generalized linear mixed models, assuming a Poisson distribution. To determine if the proportion of trichomes diverged between crops, a Hypothesis Test for difference between two proportions was conducted. Aims 3, 4, 5 and 6: No-choice assays were performed with two treatments (5 pots with soybean and 5 with sunflower) and four repetitions; and choice assays with four treatments (sunflower and soybean leaves with and without water stress) and four repetitions. ANOVA was applied and the means were compared through Duncan's test ($\alpha<0.05$). Performance was evaluated by recording the time of larval, pupal and total development and pupal weight. The data were analyzed by ANOVA after transforming the variable into the Aligned Rank Transform. Aim 7: Under controlled conditions, two generations developed; the parental one with two treatments (Sf diet: sunflower, and Sb diet: soybean; $n=65$), and the offspring with four treatments (Sf-Sf, Sf-Sb, Sb-Sb and Sb-Sf; $n=90$). The duration of the larval, pupal and total periods, and pupal weight

were recorded. For the first generation, the data were analyzed by the Mann-Whitney test and for the offspring ANOVA was used, after Aligned Rank Transform. Aim 8: 5 assays were made, one per each average temperature achieved: 19.7; 24.2; 28.0; 31.8 and 35.0°C. In every experimental unit, the duration of the larval, pupal and total periods was recorded. A Kruskal-Wallis non-parametric variance analysis was applied with the proportional differences of development rates of the total (larval + pupal) period between the two diets, at different temperatures. *R. nu* thermodependent development was estimated in relation to the food substrate, by Brière I non-linear model. Significant differences were identified between the sowing dates of the 2 agricultural cycles ($\chi^2=11.562$, $p=0.004$). The density of *R. nu* eggs was not affected by the oviposition substrate (sunflower and soybean) within each crop system (alone vs intercropping) ($\chi^2=4.903$, $p=0.092$); nor was it neither affected by the crop system within each sowing date ($\chi^2=1.931$, $p=0.386$). In terms of preference, *R. nu* did not manifest a differential oviposition behavior when it had the possibility to choose between host plants: sunflower and soybean. In two of the three sowing dates considered, a greater number of eggs was recorded in intercropping than in sole cropping; but with significant statistical differences only in the last term evaluated ($t=2.662$, $p=0.009$). In sunflower and in soybean, *R. nu* eggs were predominantly located in the underside of leaves, coinciding with the greatest density of trichomes. The mean percentages of eggs in the adaxial surface of sunflower and soybean leaves were 16 and 11% respectively; while in the abaxial surface, such percentages were 84% for sunflower and 89% for soybean. In sunflower and soybean, there were significant differences in the number of trichomes.cm⁻² in the adaxial compared to the abaxial surface ($t=-16.573$; $p< 0.001$; $t=-27.612$; $p< 0.001$). In the adaxial surface of sunflower leaves, 13% less of hairs.cm⁻² was recorded in comparison to the abaxial surface; while in soybean, this difference was higher. The proportion of trichomes in the abaxial surface of sunflower leaves was different from the proportion of trichomes in the abaxial surface of soybean leaflets ($Z_p: 31.24 > Z_c: 1.96$). In both oviposition site choice assays, *R. nu* preferred to place their eggs on sunflower leaves, and in those that did not present water stress symptoms ($F=25.89$; $p<0.001$ and $F=20.82$; $p=0.001$). The performance of larvae was better when they used sunflower instead of soybean as their food source. The rate of development of *R. nu* was between 6 and 20% higher when larvae were fed with sunflower, in comparison to the rate of development of the larvae that grew on soybean leaflets. The rate of individuals that survived was the same for the larvae fed with sunflower or soybean ($\chi^2 = 0.5415$; $P = 0.4618$). Pupal weight, which during the larval stage fed from sunflower leaves, was between 8 and 25% higher, compared to pupal weight of those consuming soybean leaflets

($F=155.66$; $p<0.001$; g.l.= 1). These results coincide with the PPH predictions. In the first generation, food significantly influenced on both larval ($W=1538.0$; $p<0.0001$) and total developmental rates ($W=1633.5$; $p<0.0001$). The maternal effect of diet on the offspring performance was verified. The rate of development of the offspring generation larvae (G2) that consumed sunflower leaves, from parents fed with sunflower, was 13% higher than the rate recorded for the individuals that fed on soybean leaflets. It was observed that the food consumed by the parents during the larval stage had a significant effect on larval, pupal, and total developmental rates of their offspring. The food consumed by the parents had a significant effect on the offspring pupal weight ($F=54.4$; $p<0.001$). *R. nu* completed their development from neonate larvae into adulthood in all the evaluated temperatures; except for the average temperature of 35.0°C. The proportional differences in developmental rates between both food substrates were not preserved in the four evaluated temperatures; so rate isomorphy did not occur. The type of food ingested by the *R. nu* larvae and the temperature affected the larval, pupal and total developmental rates. The lower and upper thermal thresholds were different for the larval, pupal and total periods according to the food source. At the confidence level used, there were no differences between the Brière I model parameters. The results obtained in this thesis allowed to learn that sunflower-soybean intercropping would not be the best crop strategy to decrease the impact of *R. nu* because: (I) The combination of two *R. nu* hosts as members of the association favors oviposition, in comparison to the respective sole crops. (II) The better performance on sunflower, entails lower developmental times and higher pupal weights. (III) In agreement with the theory of maternal effects, this system benefits the performance of consecutive *R. nu* generations. To assess the relevance of vegetal diversity on the *R. nu* dynamics, besides the knowledge provided by this thesis, it is necessary to study other aspects jointly; aspects intervening in the decision-making of phytophagous insects, in relation to the use of resources in agroecosystems.

CAPÍTULO I



INTRODUCCIÓN GENERAL

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

1. Agroecosistema. Desarrollo, expansión e intensificación agrícola pampeana.

La agricultura implica la simplificación de la estructura medioambiental en áreas extensas y el reemplazo de la diversidad natural por un número pequeño de plantas cultivadas y animales domesticados (Andow, 1983). En efecto, los paisajes agrícolas del mundo se encontraban hasta los años 90, integrados por sólo doce especies de cultivos de grano, 23 cultivos hortícolas y 35 especies de frutales y frutos secos (Fowler & Mooney, 1990). Del total de la superficie de tierra, a nivel mundial, se destina un tercio para la agricultura y los cinco principales cultivos que se producen son caña de azúcar (20,1%), maíz (12,4%), trigo (8,4%), arroz (8,4%) y papa (4,2%). Soja (3,8%) y girasol (0,5%) ocupan el sexto y vigésimo noveno lugar en el ranking de producción mundial (FAOSTAT, 2017; FAO, 2018).

Sin lugar a dudas, una de las actividades económicas más significativas de la Argentina es la agricultura, ya que no solamente satisface la demanda interna del país sino que también sus productos constituyen un valor importante en las exportaciones (Lema, 2017). En el orden mundial Argentina ocupa el octavo lugar en cuanto a superficie de tierras cultivadas (35.750.000 ha), el tercero en tierras cultivadas per cápita (1.12 ha) y decimoquinto en superficie bajo riego (Di Paola, 2015).

Desde comienzo de la década de 1970 en Argentina se inició un proceso de agriculturización consistente en el uso creciente y continuo de las tierras para cultivos agrícolas en lugar de usos ganaderos o mixtos. Dicho proceso de agriculturización se consolidó primero en la pampa húmeda, abarcando las provincias de Buenos Aires, sur de Santa Fe, sureste de Córdoba y noreste de La Pampa, y luego se difundió hacia otras ecoregiones, especialmente a las Yungas, el Gran Chaco y el Espinal (Manuel-Navarrete *et al.*, 2005).

El cultivo de soja *Glycine max* (L.) Merrill (Fabaceae) fue el protagonista del crecimiento vertiginoso de la agricultura en el país, provocando un estancamiento o reducción de la superficie dedicada a otros productos agrícolas y el reemplazo de las destinadas a la ganadería (Reboratti, 2010). En los años 90, la excelente rentabilidad de la soja comparada con otros cultivos (maíz, trigo, sorgo y girasol) favoreció su extraordinaria difusión (Conte *et al.*, 2010). Estudios de la época señalan que el

margen bruto por hectárea del cultivo de soja fue 104,5% mayor al del cultivo de maíz (Peretti, 1990).

A partir de 1996 comenzaron a comercializarse variedades de soja genéticamente modificadas, con el gen de tolerancia a glifosato (Soja GM-RG) (MAGP-IIICA, 2012). Esta tecnología en combinación con la siembra directa y el barbecho químico representó una innovación radical, que cambió absolutamente las reglas de producción, comercialización y estructuración del espacio social (Truffer *et al.*, 2011).

Durante el periodo 1996-2015 la superficie sembrada con soja en la Argentina se triplicó, mientras que la destinada a maíz, girasol y trigo se mantuvo estable o decayó (Figura 1.1). La mayor parte de ese crecimiento productivo se concentró en la región pampeana pero los cambios relativos más significativos ocurrieron en las zonas extrapampeanas. Las superficies sembradas en Chaco y Santiago del Estero, por un lado, y en Tucumán y Salta, por otro, aumentaron entre los años 1990–2003 cerca de 800% y de 400%, respectivamente (Satorre, 2005). Entre las campañas agrícolas 2013/14 y 2017/18, la superficie promedio implantada con esta oleaginosa fue de 19 millones de ha. El 84% de la producción se concentró en las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Santa Fe y Entre Ríos (Secretaría de Agroindustria, 2019). En esta última, en 2017/18 se sembraron 1.209.400 ha, incrementándose 1% la superficie destinada a este cultivo con respecto al ciclo agrícola anterior (SIBER, 2018).

La producción argentina de girasol *Helianthus annuus* L. (Asteraceae) se puede dividir en dos grandes etapas (I) hasta el ciclo agrícola 1999 y (II) los años siguientes hasta la actualidad. En la primera etapa se produjo el récord histórico de superficie sembrada con esta oleaginosa, alcanzando los 4.24 millones de ha. El segundo periodo se inicia con una caída abrupta de la superficie sembrada como consecuencia del quebranto económico inducido por los magros precios internacionales (Gutiérrez Cabello *et al.*, 2011). Entre 2013/14 y 2017/18, el área promedio destinada a este cultivo fue de alrededor de 1.5 millones de ha, siendo Buenos Aires, Chaco y La Pampa las principales provincias productoras de girasol (Secretaría de Agroindustria, 2019). En el caso particular de Entre Ríos, en 2017/18 se sembraron 1500 ha registrándose una caída del 67% de la superficie destinada a este cultivo, con respecto al ciclo agrícola anterior. El área implantada con esta oleaginosa se concentró en los Departamentos La Paz (44%), Paraná (33%), Diamante (10%), Uruguay (10%) y Villaguay (3%) (SIBER, 2018). Entre las principales limitantes para la producción de este cultivo en la provincia se encuentran por un lado, los daños ocasionados por las aves plaga, fundamentalmente las palomas (SIBER, 2016). Por el otro lado, los

derechos de exportación (retenciones) aplicados desde el año 2002 hasta diciembre de 2015, provocaron una disminución de los resultados económicos de este cultivo. Si se analiza la evolución del margen bruto, es decir, el que se obtiene al descontar de los ingresos brutos, los costos operativos y de comercialización, en el periodo 2013-2018, el mismo disminuyó aproximadamente un 65%, en términos reales. Estos factores han llevado a un efecto sustitución del girasol por el cultivo de soja (Engler, Com. pers.).

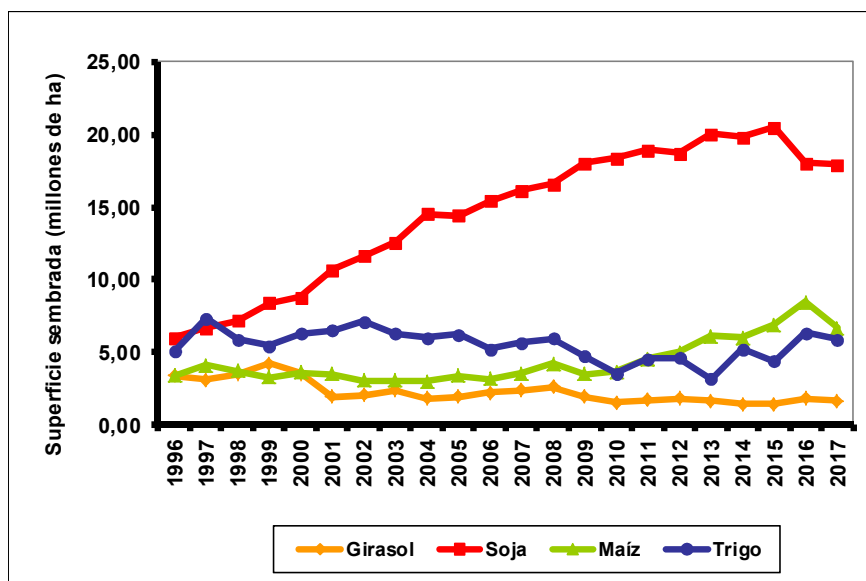


Figura 1.1. Evolución de la superficie sembrada (millones de ha) de girasol, soja, maíz y trigo en la Argentina durante el periodo 1996-2017. Fuente: Elaboración propia en base a Estimaciones agrícolas de la Secretaría de Agroindustria (2019).

En lo que respecta al cultivo de soja, los elevados precios internacionales (Páez, 2016) y la confluencia de dos insumos: los agroquímicos y la maquinaria, posibilitaron su expansión en el territorio nacional. En referencia al primer insumo, el campo argentino entró en la órbita de las grandes compañías internacionales de agroquímicos, fuertemente concentradas y que ofrecen en el mercado fertilizantes, herbicidas, insecticidas, fungicidas e inoculantes, además de las semillas genéticamente modificadas, que le aseguran al productor el más alto rendimiento posible. Un segundo grupo de insumos, menos concentrados económicamente, es el de las fábricas de maquinaria agrícola. En ese rubro Argentina ha tenido una larga historia de participación en la innovación tecnológica y la producción de arados, sembradoras y cosechadoras (Reboratti, 2010).

Desde el punto de vista socio-económico, una de las características más notables de la marcada difusión de la soja es que generó en los productores agrícolas una nueva capacidad de adopción de tecnología en un medio que hasta el momento había mostrado una actitud relativamente conservadora (Satorre, 2005; Reboratti, 2010). La rápida aceptación de los cultivos transgénicos por la comunidad agrícola parece estar asociada a la disminución de las aplicaciones de herbicidas, además de la simplicidad, practicidad y eficiencia en el control post-emergente de malezas, debido a la tolerancia a glifosato, de amplio espectro de acción (EMBRAPA, 2006).

Sin embargo, este proceso de agriculturización permanente basado en la monoproducción de soja significó la desaparición de la antigua alternancia de ciclos agrícolas y ganaderos (Reboratti, 2010). La alta frecuencia de esta oleaginosa en las secuencias agrícolas tiene serias consecuencias edafológicas ya que puede reducir los niveles de materia orgánica (MO) en el suelo debido al escaso retorno de rastrojo con una alta relación Carbono:Nitrógeno (C:N), que lo hace descomponer rápidamente. Asimismo, la deficiencia natural de fósforo (P) en los suelos de la región pampeana y la alta demanda de nitrógeno (N) para la producción de granos de soja torna negativo el balance de nutrientes (Barbagelata & Melchiori, 2007). La baja cobertura de rastrojos también puede incrementar el riesgo de erosión hídrica y la exposición del suelo a la energía cinética de las lluvias, reduciendo la estabilidad estructural, clave para el ingreso de agua al suelo. Esta intensificación puede afectar a otros componentes del ambiente existiendo no solamente la degradación de los suelos sino también la del agua, del aire y pérdida de biodiversidad (Andriulo *et al.*, 2004). Además, el mayor uso de insumos químicos en la agricultura intensiva puede tener efectos adversos sobre los ecosistemas acuáticos (p. ej. Brodeur, 2010; Carriquiriborde, 2010; Lajmanovich *et al.*, 2012; Nikoloff, 2013), ya sea por deriva durante la pulverización o por los flujos de lixiviación y escurrimiento (Sasal *et al.*, 2010) y sobre los seres humanos por exposición ambiental y/o por las actividades laborales (p. ej. Ventura *et al.*, 2012; González *et al.*, 2013; Villaamil Lepori *et al.*, 2013). En este punto, por ejemplo, la Agencia Internacional para la Investigación sobre Cáncer (IARC) consideró necesario reclasificar al glifosato incluyéndolo en el grupo 2A, como producto probablemente cancerígeno (Guyton *et al.*, 2015). Estudios recientes evidenciaron un incremento en el riesgo de padecer leucemia mieloide aguda en poblaciones rurales, con elevada exposición a este herbicida (Andreotti *et al.*, 2017).

La conservación del capital natural es un requisito fundamental de la sustentabilidad de los sistemas agrícolas, por lo tanto, cualquier sistema que produzca a costa de degradar los recursos naturales no podrá considerarse sustentable (Flores

& Sarandón, 2002). La Comisión Mundial sobre el Ambiente y el Desarrollo definió al desarrollo sostenible como aquel que puede satisfacer las necesidades de las generaciones presentes sin comprometer la satisfacción de las necesidades de las generaciones futuras (WCED, 1987). El desarrollo de nuevos paquetes tecnológicos en relación a la producción agrícola de la Argentina debe compatibilizar la sustentabilidad y la rentabilidad para garantizar el progreso económico, el bienestar de la comunidad rural y la conservación de los recursos naturales.

2. Artrópodos plaga y su manejo en el escenario agrícola argentino

La producción de alimentos por unidad de superficie se encuentra limitada por varios factores, incluyendo fertilidad, agua, potencial genético del cultivo, y organismos, principalmente invertebrados, que consumen tejido vegetal (Koul & Cuperus, 2007). Las plantas cultivadas a nivel mundial son dañadas por alrededor de 10.000 especies de insectos, 30.000 malezas, 10.000 enfermedades (causadas por hongos, virus, bacterias y otros microorganismos) y 1.000 especies de nemátodos (Hall, 1995). En Estados Unidos se estimó que los insectos (13%), las enfermedades (12%) y las malezas (12%) son los responsables del 37% de las pérdidas de rendimiento potencial de los cultivos (Pimentel, 2005).

En el caso particular de los artrópodos, cuando desarrollan altas densidades poblacionales en los agroecosistemas, pueden dañar los cultivos disminuyendo su rendimiento y son, por lo tanto, considerados plagas (Greco *et al.*, 2002). Las mismas se clasifican en cuatro tipos: (1) subeconómica, (2) ocasional, (3) perenne y (4) severa. Estas dos últimas categorías son las que ocasionan los mayores daños a la producción agrícola (Pedigo & Rice, 2009).

Desde sus orígenes, el ser humano ha tenido que convivir y tolerar los perjuicios causados por las especies fitófagas, pero gradualmente aprendió a controlarlas a través de sus propias experiencias. En la historia del control de plagas se reconocen las siguientes fases: la era del enfoque tradicional (hasta 1938), la era de los plaguicidas (1939-1975), la era del Manejo Integrado y más recientemente, del Manejo Ecológico de Plagas (MIP y MEP, respectivamente) (1976 en adelante) (Metcalf, 1980; Dhaliwal *et al.*, 1998; Olivera, 2001; Paleologos & Flores, 2014). La primera de ellas se caracterizó por la utilización de prácticas culturales y mecánicas con la finalidad de minimizar el daño causado por los herbívoros. En este periodo también se emplearon productos de origen vegetal tales como neem, crisantemo,

rotenona, tabaco y muchos otros derivados de plantas menos conocidas. La era de los plaguicidas comenzó con el descubrimiento del DDT en el año 1939 y a partir de éste, se sucedieron una serie de insecticidas sintéticos de los grupos de los organoclorados, organofosforados, piretroides sintéticos y finalmente los carbamatos (Dhaliwal *et al.*, 2004). Debido a la eficacia, conveniencia práctica, flexibilidad y bajos precios, los insecticidas jugaron un rol fundamental en el incremento de la producción de los cultivos. Sin embargo, el empleo intensivo y extensivo de los mismos, su uso incorrecto y su abuso durante varias décadas han causado daños importantes en el ambiente, por contaminación de suelo, aire y agua, la pérdida de biodiversidad y la alteración de funciones ecosistémicas (como el control biológico de las plagas agrícolas), así como en la salud por intoxicaciones agudas y graves por exposición directa y a través de los alimentos (p. ej. Aktar *et al.*, 2009 y referencias allí citadas; Bommarco *et al.*, 2011; Carrasco *et al.*, 2012; Arts *et al.*, 2015; Chagnon *et al.*, 2015; EASAC, 2015). Además, trajo aparejado un incremento en sus costos y la generación de resistencia por parte de las plagas. Esto provocó un profundo cuestionamiento del control químico como única herramienta, desembocando en el desarrollo de un nuevo concepto: el "Manejo Integrado de Plagas" (MIP) (Kogan, 1998; Dhaliwal *et al.*, 2004). Esta idea cobró su máximo auge hacia fines de la década del '70, y debido a su gran nivel de aceptación se constituyó en un paradigma. El MIP se define como un proceso de toma de decisiones basado en el uso coordinado de múltiples tácticas para optimizar el control de toda clase de plagas de una manera ecológica y económicamente sustentable (Prokopy & Kogan, 2003). Las tácticas disponibles para el uso del MIP incluyen el manejo cultural, la resistencia de la planta hospedante y otros tipos de manejo genético, el control biológico, el control del comportamiento, y el control químico. Sea cual fuera la táctica seleccionada o la combinación de ellas para su uso, se debe reconocer que los artrópodos no son las únicas plagas, ya que también deben considerarse a los patógenos, vertebrados, y malezas, al momento de formular una estrategia MIP. Una estrategia MIP involucra una serie de componentes que pueden ser cambiantes y no controlables, tales como, las características biológicas de la plaga, los niveles tolerados de la misma, el grado de protección que brinda la táctica seleccionada y sus costos, el estado actual y futuro de los factores bióticos y abióticos del ambiente dentro del cual deben aplicarse tácticas de manejo de plagas, y una serie de elementos sociales, culturales, legales y políticos que pueden establecer restricciones o diferentes modalidades para su implementación (Prokopy & Roitberg, 2007).

El MIP involucra varios puntos que son claves: (1) Una plaga se conceptualiza como todo organismo nocivo para el ser humano, incluyendo invertebrados, vertebrados, patógenos y malezas, cuya abundancia supera un nivel de daño económicamente significativo preestablecido; (2) La integración, que significa el uso armonioso de múltiples métodos para el manejo de una única plaga o para varias plagas de incidencia simultánea o sucesiva; (3) El MIP es un esfuerzo interdisciplinario; y (4) Manejo se refiere a un proceso de toma de decisiones sobre la base de principios ecológicos y consideraciones económicas y sociales (Kogan, 1998).

Desde la perspectiva agroecológica, se acuñó el concepto de Manejo Ecológico de Plagas (MEP) el que se refiere al manejo de un conjunto de técnicas adecuadas que en base a la diversidad biológica y a la calidad del suelo estimulan y protegen el equilibrio biológico y ecológico (Olivera, 2001). Hay tres rasgos que distinguen al MEP: (I) Los individuos plaga son considerados parte integral del agroecosistema, por lo que el conocimiento del mismo facilitará el desarrollo de estrategias de manejo que permitan reducir o aumentar los factores naturales de natalidad (estrategias “Bottom-up”) y mortalidad de la plaga (estrategias “Top- down”). (II) No todas las densidades de una población causan suficiente pérdida como para justificar un esfuerzo de manejo. En este punto es sustancial determinar el Nivel de Daño Económico. (III) Se deben usar estrategias de control simultáneas, que tiendan a actuar sobre los estados más vulnerables de la plaga. Las mismas deben evitar un impacto negativo sobre otros componentes del sistema (Pérez Consuegra, 2004).

3. *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae)

3.1 Distribución geográfica y plantas hospedantes

Rachiplusia nu, especie objeto de estudio de la presente tesis, se distribuye desde Canadá hasta Temuco (Chile) en América del Sur (Artigas, 1972; Angulo & Weigert, 1974). Además de este país, está presente en Brasil, Bolivia (Kitching, 1987), Uruguay (Pastrana, 2004), Paraguay y Perú (Barbut, 2008). En Argentina se encuentra en las provincias de Tucumán, Misiones, Chaco, Santa Fe, Entre Ríos, Córdoba, Mendoza, Buenos Aires, Río Negro (Pastrana, 2004), La Pampa (Belmonte & Baudino, 2009), Corrientes (Cáceres *et al.*, 2011), Salta (Ávila *et al.*, 2015).

Se trata de una especie polífaga (Griot, 1944; Salto, 1979; Pereyra, 1995; Luna & Greco, 1998; Igarzábal *et al.*, 2011), entendiéndose como tal a aquellos insectos que se alimentan de plantas de diferentes familias, que no presentan alguna característica

común que gobierne la selección del herbívoro. Para Argentina se citan 38 especies vegetales comprendidas en 13 familias botánicas como hospedantes de *R. nu* (Pastrana *et al.*, 2004). Dentro de ellas, se destacan por el número de especies las asteráceas, siguiéndole en orden decreciente las fabáceas y las brasicáceas (Figura 1.2). En lo que respecta a cultivos agrícolas se la menciona causando daño en lino *Linum usitatissimum* L. (Linaceae) (Ríos de Saluso, 1993), soja (Aragón *et al.*, 1997) y girasol (Quintana & Abot, 1987; Sosa, 1990; Iannone & Leiva, 1994), así como también en forrajeras perennes, principalmente alfalfa, *Medicago sativa* L. (Fabaceae) (Rizzo, 1970).

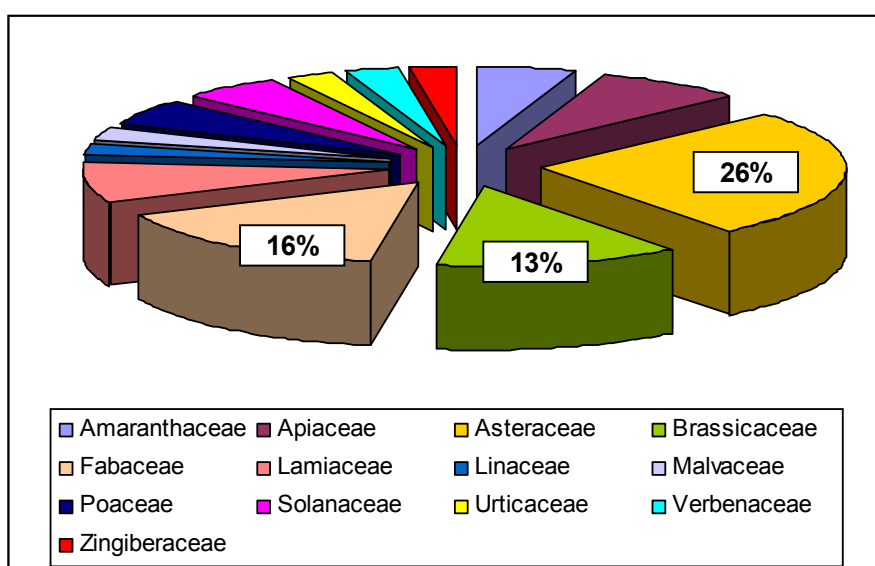


Figura 1.2. Composición porcentual según el número de especies de las Familias botánicas hospedantes de *R. nu* citadas para Argentina. Datos de Pastrana *et al.* (2004).

3.2 Aspectos morfológicos, biológicos y de comportamiento

Los adultos de *R. nu* son polillas de hábito nocturno, cuyas hembras colocan entre 600 y 1438 huevos principalmente en las hojas y en los estratos superior y medio de la planta (Sánchez & Pereyra, 1995; Aragón *et al.*, 1997, Valverde *et al.*, 2017), en forma separada y adheridos por su base al sustrato (Angulo & Weigert, 1974). Los mismos son de color blanco amarillento brillante cuando están recién puestos, tornándose en amarillo pálido al avanzar el desarrollo embrionario (Barrionuevo, 2011). Su tamaño es de aproximadamente 0,5 mm de diámetro y 0,34 mm de alto (Angulo & Weigert, 1974). Se encuentran ornamentados de costas, en un número de 25 a 46, que a partir de las bases o bordes basales laterales se dirigen hacia la micropila, a la

cual algunas no alcanzan a llegar y otras se anastomosan en las proximidades de la misma (Angulo & Weigert, 1974; Olivares *et al.*, 2005). La roseta micropilar presenta 7 a 8 celdas primarias en forma de petaloides (Barrionuevo, 2011). *R. nu* presenta entre 4 (Sánchez & Pereyra, 1995; Fachinetti, 2012) y 6 estadios larvales (Barrionuevo, 2011; Barrionuevo *et al.*, 2012) en función de la dieta y de la temperatura experimental. El tórax de las larvas se encuentra dividido en tres segmentos, cada uno con un par de patas torácicas (Colombo da Luz *et al.*, 2014). Las patas verdaderas son verdes o verde amarillento, aunque en algunos ejemplares pueden ser negras (Igarzábal *et al.*, 2011). Las larvas del primer estadio miden entre 1,7 y 2,9 mm de longitud y las del último (6^{to} estadio) de 24 a 30 mm (Barrionuevo, 2011). Éstas se caracterizan por presentar el cuerpo más grueso en la región caudal que en la cefálica y presentan tres pares de espuripedios desarrollados, ubicados en el 5º, 6º y 10º segmento abdominal. La coloración predominante es verde brillante, con bandas en la región dorsal y subdorsal del cuerpo. Cuando camina arquea el cuerpo al juntar a cada paso los tres pares de patas torácicas con los tres pares abdominales y avanzar como si estuviera midiendo su marcha, de ahí su nombre vulgar de “oruga medidora” (Margheritis & Rizzo, 1965). Otra característica del comportamiento se refiere a la tendencia de las larvas a erguirse apoyadas sobre sus patas abdominales; ésta se presenta en dos formas, una inmóvil que le permite mimetizarse y evitar a sus predadores y la otra agitándose para poder encontrar una rama o una hoja y así, mediante sus patas torácicas, continuar desplazándose (Angulo & Weigert, 1974).

Luego del último estadio larval, se inicia una etapa llamada de prepupa en la que la larva deja de alimentarse y comienza a construir un capullo con hilos sedosos entrelazados conformando dos capas, una externa más densa y una interna más raleada (Angulo & Weigert, 1974), en las hojas de la planta hospedante. La pupa es obtecta, adéctica, con tegumento liso, dorsalmente castaño oscuro a negruzca y ventralmente castaño claro a rojizo, se oscurece gradualmente en los días próximos a la emergencia del adulto. Su longitud varía de acuerdo al sexo, las hembras 12,0 a 13,0 mm y los machos entre 15,0 y 16,2 mm (Barrionuevo, 2011; Luz *et al.*, 2014).

3.3 Daños e impacto económico

3.3.1 En el cultivo de soja

El 52,2% de las larvas de Lepidoptera, colectadas en cultivos de soja en Argentina, Brasil, Chile y Uruguay, son fitófagas y el 27,5% de ellas se alimenta principalmente de plantas de la Familia Fabaceae (Formentini *et al.*, 2015).

En Argentina, las dos especies folívoras más relevantes por su abundancia, frecuencia de aparición y el daño que causan al cultivo de soja son *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) “oruga de las leguminosas” (Lepidoptera: Erebidae) y *Rachiplusia nu* (Guenée) “oruga medidora” (Lepidoptera: Noctuidae) (Aragón *et al.*, 1997, Igarzábal *et al.*, 2011), aunque también se destaca *Chrysodeixis* (Pseudoplusia) *includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) en el área sojera de Tucumán (Casmuz *et al.*, 2012) y *Helicoverpa gelotopoeon* (Dyar) (Lepidoptera: Noctuidae), que a partir del 2009 incrementó su incidencia y área de dispersión (Perotti & Gamundi, 2014). Asociados a las nuevas tecnologías de producción de esta oleaginosa se observaron cambios en los momentos de ataques de las dos defoliadoras más importantes registrando un adelanto de *A. gemmatalis* y un retraso en el caso de *R. nu*. Estas modificaciones hacen que ambas especies coexistan durante el período de llenado de granos (R5 y R6) (Perotti & Gamundi, 2007), acentuando su impacto en el rendimiento productivo del cultivo.

Las larvas recién nacidas de *R. nu*, se alimentan sólo de la epidermis y parénquima del lado de la hoja en que se encuentran, dejando restos de la lámina foliar con un típico aspecto “enrejado”. A medida que crecen y mudan, las mandíbulas se fortalecen y comienzan a alimentarse de la lámina completa, siempre respetando las nervaduras principales (Igarzábal *et al.*, 2011). Las orugas del último estadio (5^{to} o 6^{to}) son las responsables de causar los mayores daños en el cultivo de soja, ya que consumen de 80 a 85% de lo ingerido en el total de su desarrollo (Aragón *et al.*, 1997). En condiciones de laboratorio (23 ± 1°C y 70 ± 10% HR), puede ingerir desde 0,15 cm² en el primer estadio larval hasta 84,6 cm² en el quinto (Gamundi & Buhmann, 1983).

A escala de la planta, la larva prefiere ubicarse en el estrato inferior (Perotti & Gamundi, 2007) y la disposición espacial dentro del cultivo es aleatoria a muy baja densidad y agregada a densidades mayores (Luna & Greco, 1998), aunque el patrón detectado a bajas densidades puede ser un artefacto estadístico (Taylor, 1984). Perotti & Gamundi (2007) observaron que los niveles de abundancia de *R. nu* se incrementan a medida que disminuye el espaciamiento entre líneas de siembra, independientemente del grupo de madurez (GM¹) del cultivar. La tolerancia de *G. max* a la defoliación es mayor en los estados vegetativos que en los reproductivos. A su vez, los cultivares de ciclo corto (III, IV y V) son menos tolerantes que los de ciclo largo

¹ GM: cultivar de soja mejor adaptado a una zona geográfica definida, siendo el fotoperiodo y la temperatura determinantes de su desarrollo (Heatherly & Elmore, 2004; Zhang *et al.*, 2007).

(VI y VII) (Gamundi & Perotti, 2007), lo que sustenta criterios de decisiones diferenciales.

3.3.2 En el cultivo de girasol

La planta de girasol constituye un nicho clave en la ecología de varios insectos, ya que por su estructura morfológica puede actuar como refugio, fuente de alimento y además como atrayente de diversas especies, principalmente himenópteros que forrajean en las flores del cultivo (Rogers, 1992; Torreta *et al.*, 2010). A nivel mundial se describen 20 especies de la Familia Noctuidae asociadas al cultivo de girasol, entre las cuales el género *Rachiplusia* se menciona solamente para América del Sur (Rogers, 1992).

Para Argentina se citan cinco especies de orugas defoliadoras: *R. nu*, *Spilosoma virginica* (Fabricius) (Lepidoptera: Arctiidae), *Actinote pellenea* Hübner (Lepidoptera: Acraeidae), *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) y *S. cosmiodes* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) (Sosa, 1990; Vitti *et al.*, 2008). La primera de ellas es una de las plagas más importante del cultivo de girasol (Salto, 1980).

Las larvas y pupas de *R. nu* se ubican preferentemente en los sectores medio e inferior de la planta (Sosa, 1990). Las infestaciones comienzan en las hojas inferiores, luego se trasladan a las superiores a medida que avanza el desarrollo (Zerbino & Ribeiro, 2000). Las mismas se inician en el centro del lote de producción de girasol (Vitti *et al.*, 2008) y generalmente los mayores ataques se producen en los estados vegetativos. Una larva puede consumir a lo largo de su ciclo larval más de 40 cm² de área foliar, llegando a casos extremos de 80 cm², por lo que en ataques severos, donde se superan los 50 individuos por planta, ésta pierde la totalidad del área fotosintetizante, con la consiguiente merma en su productividad (Salto, 1979).

En la provincia de Córdoba, en los meses de primavera y verano, sus poblaciones suelen alcanzar densidades de 10 a 30 larvas/planta en el período de floración y llenado de aquenios. Los adultos que emergen en primavera desarrollan la primera generación de larvas en alfalfa y lino mientras las generaciones posteriores se desarrollan en girasol, soja y alfalfa (Aragón, 2003).

Se determinó que el mayor impacto de la defoliación en el rendimiento del girasol tiene lugar en el periodo comprendido entre el botón floral (estado fenológico R1-R3) y el principio de floración (R5.1) (Iannone & Leiva, 1994). Además, se conoce que la planta puede soportar densidades de larvas que consuman hasta un 20% del

área foliar tanto en estados vegetativos como reproductivos, sin producir mermas importantes en el rendimiento, siempre y cuando dicha defoliación ocurra en la parte inferior de la planta (Sosa, 1990; Iannone & Leiva, 1994; Vitti *et al*, 2008). Los cultivares de ciclo corto son más afectados que los de ciclos largos, es decir, toleran un menor nivel de defoliación (Iannone & Leiva, 1994). Los umbrales de daño económico² para esta plaga combinan el tamaño de la larva y el porcentaje de defoliación en el lote. Así, por ejemplo, si las larvas miden entre 2,5 y 3 cm y el lote tiene 15% de defoliación entonces el UDE será de 6 larvas por planta (Iannone & Leiva, 1994).

3.4 Investigaciones sobre *Rachiplusia nu* desarrolladas en Argentina

En Argentina se llevaron a cabo un número importante de investigaciones referidas a diferentes aspectos de *R. nu*. Las mismas se pueden agrupar en las siguientes cuatro áreas temáticas: (I) Biología; (II) Factores naturales de mortalidad; (III) Ecología nutricional y (IV) Manejo del insecto plaga.

I. Biología

Baez & Massolo (1982) generaron información sobre parámetros biológicos de *R. nu* y determinaron el área foliar de girasol consumida durante el periodo larval, en condiciones naturales y controladas de temperatura y humedad.

Gamundi & Buhmman (1983) determinaron la duración de cada uno de los estados de desarrollo de *R. nu*, el número de estadios larvales y el número promedio de huevos por hembra, en condiciones de laboratorio, utilizando como fuente de alimento hojas de soja. Además, estudiaron el consumo foliar de acuerdo a la edad de la larva, insumo necesario para la obtención del nivel de daño económico.

Pereyra (1998) estimó la reducción del área foliar de soja debida al consumo de larvas de *R. nu*, a partir de la biomasa consumida de plantas en estados vegetativo y reproductivo, mediante técnicas gravimétricas.

Diez & Gamundi (1991b) ajustaron un método de cría de *R. nu* y evaluaron dos dietas artificiales en base a diversos parámetros biológicos, ya que se requería disponer de una cría permanente en condiciones controladas para realizar estudios sobre la producción y patogenicidad de un virus específico de este lepidóptero (VPN).

² UDE: densidad poblacional de la plaga ante la cual debe iniciarse una acción de control (Pedigo *et al.*, 1986).

Barrionuevo (2011) redescubrió e ilustró los estados preimaginales de *R. nu* (huevo, estadios larvales y pupa) de acuerdo a estándares actualizados de patrones específicos y los comparó con los de *C. includens*. Ambas especies pueden confundirse en condiciones de campo, debido a que se presentan en el cultivo de soja en forma simultánea, principalmente en el noroeste argentino.

Sánchez & Pereyra (1995) estimaron la supervivencia, la fecundidad y los siguientes cuatro parámetros poblacionales: tasa reproductiva neta (R_0), tasa intrínseca de crecimiento (r), tasa finita de incremento (λ), tiempo generacional (T) y valores reproductivos (v_x), a partir de tres cohortes de huevos de *R. nu*, mantenidas en condiciones de laboratorio.

Barrionuevo *et al.* (2012) determinaron parámetros del ciclo de vida, reproductivos y poblacionales de *R. nu* y de *C. includens*, criadas con dieta artificial, en condiciones ambientales controladas.

Fachinetti (2012) registró el tiempo de desarrollo de *R. nu* a nueve temperaturas constantes (de 10 a 39°C) con la finalidad de establecer la relación entre la velocidad de desarrollo y la temperatura. También estimó fecundidad y fertilidad y la media de la velocidad de desarrollo y su variabilidad asociada, se representaron con modelos no lineales.

II. Factores naturales de mortalidad

Molinari *et al.* (1987), Vera & Nasca (1991) y Diez *et al.* (1991a, 1991c) identificaron los agentes patógenos de larvas de *R. nu* colectadas en pasturas de alfalfa y en cultivos de soja. Molinari *et al.* (1991), Rodríguez *et al.* (1991), Luna & Sánchez (1999), Ávalos *et al.* (2004), Sánchez & Luna (2008), Berta *et al.* (2009) y Colomo *et al.* (2009) estudiaron los parasitoides asociados a las larvas y estimaron el porcentaje de parasitismo. Valverde & Virla (2007) y Valverde *et al.* (2014) identificaron las especies de parasitoides de huevos de *R. nu*.

Molinari (1990, 2005) estimó la abundancia de insectos predadores y arácnidos, presentes tanto en el follaje del cultivo de soja como en el suelo, lo que permitió diferenciar la composición de controladores biológicos en los dos estratos.

III. Ecología nutricional

Pereyra (1994) evaluó el efecto del cambio en la calidad de las hojas de soja sobre el crecimiento y reproducción de *R. nu* mediante dos experimentos en

laboratorio, uno en diciembre (estado vegetativo) y otro en febrero (estado reproductivo, plena fructificación). Además estimó contenido de agua de las hojas, índices nutricionales en larvas del último estadio (tasas de crecimiento y consumo, eficiencia bruta y neta de conversión de alimento en biomasa, digestibilidad aproximada), duración del estado larval y peso pupal. En el caso de los adultos, alimentados durante el estado larval con hojas de diciembre y febrero, estimó fecundidad, tasa de oviposición, duración de vida de la hembra adulta y periodos de preoviposición y oviposición.

Pereyra (1995), sobre la base de la estimación de la tasa de consumo de *R. nu* de soja, girasol y melilotus, del crecimiento de las larvas y de la eficiencia con que las mismas transforman el alimento vegetal en biomasa midió: peso del alimento ingerido, de la biomasa ganada y de las heces producidas, a través de métodos gravimétricos. A partir de estas variables generó cinco índices que permitieron inferir el grado de afinidad con las diferentes plantas huéspedes. Además, como el crecimiento y la eficiencia de utilización del alimento en los insectos se correlacionan positivamente con el contenido de agua de las plantas que consumen, analizó su relación y el desempeño de las larvas, por medio de regresiones.

IV. Manejo del insecto plaga

a. Fluctuación poblacional de adultos

Aragón *et al.* (1997) y Saluso (2007) generaron información referida a la actividad de vuelo de adultos de *R. nu* e identificaron los picos de abundancia en cada sitio a partir de las capturas diarias en trampas de luz, ubicadas en diferentes zonas del país.

b. Abundancia y distribución de huevos

Valverde *et al.* (2017) observaron que las mayores densidades de huevos de *R. nu* y de otros lepidópteros se registraron en los folíolos y en las etapas tempranas (estado vegetativo y floración) del ciclo del cultivo de soja, aunque los valores de abundancia de desoves de *R. nu* fueron similares en todos los estratos de la planta (superior, medio e inferior).

c. Disposición espacial de larvas

Luna & Greco (1998) registraron el número de larvas en parcelas experimentales cultivadas con soja de segunda época, y determinaron su patrón de disposición espacial sobre la base de la relación varianza/media y de los métodos de

regresión de Taylor y de Iwao. Esta información permite diseñar metodologías de muestreo eficientes.

d. Protocolos de muestreo

Trumper *et al.* (2004) desarrollaron protocolos de muestreo secuencial, mediante un programa de muestreos intensivos de larvas de *R. nu* en soja con paño vertical, en cuatro combinaciones de dos épocas de siembra (primera y segunda) y dos escenarios de disponibilidad de agua (riego y secano). Estos protocolos permiten realizar estimaciones de abundancia con niveles fijos de precisión, optimizando el esfuerzo de muestreo para determinar si la plaga ha alcanzado el nivel de daño económico.

e. Efectos de la defoliación natural y artificial

Perotti & Gamundi (2007) evaluaron la incidencia de la defoliación natural provocada por *A. gemmatilis* y *R. nu* sobre el rendimiento y sus componentes, en cultivares de soja de tres grupos de madurez (III, IV y V) y dos hábitos de crecimiento (determinado e indeterminado) sembrados a tres espaciamientos entre líneas (26, 52 y 70 cm). Perotti (2010) profundizó aspectos relacionados a la investigación precedente, generando conocimientos mediante la determinación del consumo foliar de *A. gemmatilis* y *R. nu* de distintos cultivares de soja, en condiciones de campo y laboratorio y de la incidencia de la defoliación natural en diferentes cultivares de soja, sembrados a distintos espaciamientos y épocas, integrando la información obtenida en dos modelos de determinación de niveles de daño económico.

Gregorutti *et al.* (2012) simularon el efecto causado por la defoliación de las “orugas defoliadoras” sobre la interceptación de la radiación, el rendimiento en granos, sus componentes numéricos, biomasa en madurez fisiológica e índice de cosecha. Los tratamientos resultaron de la combinación de niveles de defoliación, estratos y dos estadios fenológicos del cultivo de soja.

f. Umbrales de acción

Perotti & Gamundi (2007) modificaron los umbrales de daño del complejo de “orugas defoliadoras” para el período reproductivo, según el grupo de madurez de los cultivares de soja, ya que se comprobó que los cultivares de cinco grupos de madurez (III, IV, V, VI y VII) se comportaban de la misma manera en el período vegetativo, mostrando una amplia capacidad de tolerancia a la defoliación.

g. Control químico

En diferentes sitios de la región pampeana se realizaron experimentos con distintos grupos y dosis de insecticidas con el objetivo de determinar la eficacia en el control de larvas de *R. nu*.

Salto (1980) evaluó insecticidas de amplio espectro (carbamatos, piretroides, organofosforados y organoclorados) en cultivos de girasol. Endosulfán (35%) y metamidofós (60%) fueron los insecticidas más eficaces ya que presentaron valores de mortalidad de larvas superiores al 90%, en el periodo evaluado.

En soja existe un número más elevado de investigaciones referidas al control químico de *R. nu*, las que se mencionan a continuación.

Diez & Gamundi (1995) determinaron que el principio activo hexafluron, inhibidor de la síntesis de quitina, produjo una mortalidad larval cercana al 80%, al tercer día posterior a la aplicación.

Giuggia *et al.* (2011), Casmuz *et al.* (2012) y Cortés *et al.* (2012) demostraron que las diamidas (flubendiamide, 48% y cloranttrniliprole, 20%) y los insecticidas reguladores de crecimiento de última generación (Insect Growth Regulators, IGRs) (metoxifenocide, 24% y novaluron, 10%) fueron más eficientes en el control de larvas de *R. nu* en comparación con piretroides, aplicados solos o en mezclas con fosforados. Asimismo, los IGRs presentaron mayor poder residual que los insecticidas neurotóxicos (clorpirofós, 48%).

Russo *et al.* (2012), mediante estudios toxicológicos, encontraron que la población de campo de *R. nu* estudiada presentó resistencia moderada a insecticidas piretroides (λ -Cihalotrina, Cipermetrina), frecuentemente utilizados para su control químico.

CAPÍTULO II



Preferencia de oviposición de *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae) en cultivos puros e intercultivo de soja y girasol

CAPÍTULO II

Preferencia de oviposición de *Rachiplusia nu* (Guené, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae) en cultivos puros e intercultivo de soja y girasol

INTRODUCCIÓN

La intensificación agrícola se define como el proceso hacia un cambio gradual en el uso del recurso suelo, que hace posible cultivar una determinada porción de tierra con frecuencia creciente (Boserup, 1991). Existen diferentes tipos de uso agropecuario del suelo, desde barbechos muy prolongados que permiten la regeneración parcial de la vegetación espontánea hasta los cultivos anuales y múltiples (Boserup, 1965).

La necesidad creciente de lograr sistemas agrícolas ambientalmente sostenibles, económicamente viables y socialmente aceptables (Caviglia, 2007; Mousavi & Eskandari, 2011) confluye en la concepción de un nuevo paradigma productivo, el de intensificación sustentable. Este puede definirse como el proceso que utiliza los recursos ambientales (agua, radiación solar, nutrientes) más intensamente, manteniendo o incrementando el rendimiento del cultivo por unidad de área y utilizando insumos químicos de manera racional. Este concepto incluye las llamadas “prácticas sustentables” tales como fertilización balanceada, siembra directa, cultivos de cobertura, terrazas para conservación del suelo y el manejo integrado de plagas, entre otras (Caviglia & Andrade, 2010).

Una de las alternativas de intensificación de la secuencia de cultivos es la adopción de los denominados cultivos múltiples. Estos se definen como la coexistencia de dos o más cultivos en la misma estación de crecimiento y superficie de tierra. La incorporación de los cultivos múltiples a un sistema productivo busca principalmente incrementar los rendimientos por unidad de área y tiempo mediante dos mecanismos alternativos: i) utilización más eficiente de los recursos del ambiente ii) aprovechamiento de las ventajas de la interacción entre las especies componentes a través de una configuración espacial particular (Caviglia, 2007).

Dentro de los cultivos múltiples (Andrews & Kassam, 1976) se encuentran los intercultivos, es decir, dos o más cultivos que superponen todo o parte de su ciclo, lo que implica una fuerte interacción entre las especies componentes (Ofori & Stern, 1987; Caviglia, 2007). Debido a una posible reducción de la incidencia de malezas, insectos plaga y enfermedades (Vandermeer, 1989; Björkman, 2007; Hauggaard-Nielsen *et al.*, 2008; Ijoyah, 2012) y a un uso más eficiente de los recursos, los intercultivos podrían desarrollar mayores rendimientos que los cultivos puros (Caviglia *et al.*, 2004; Echarte *et al.*, 2011; Mousavi & Eskandari, 2011; Coll *et al.*, 2012). Los cultivos componentes pueden utilizar dichos recursos en diferentes momentos, de distintas partes del suelo o del medio aéreo, o bien de diferentes formas. Por ejemplo las leguminosas usan el N₂ atmosférico mientras que las no leguminosas utilizan el nitrógeno del suelo (Caviglia *et al.*, 2004). Una condición fundamental para obtener ventajas productivas con este sistema de cultivo es que la competencia interespecífica sea menor que la intraespecífica (Spitters, 1983; van Wolfswinkel, 2006) y al menos una de las especies debe resultar beneficiada por la presencia de la especie acompañante (Zhang & Li, 2003; Hauggaard-Nielsen & Jensen, 2005; Tosti & Thorup-Kristensen, 2010).

El cultivo múltiple es importante en los países en desarrollo, especialmente en aquellas regiones en las cuales los pequeños agricultores deben hacer un uso intensivo del suelo, debido a la escasez de dicho recurso (Francis, 1986), donde hay una extensa diversificación genética natural de los cultivos de cereales y oleaginosas (Anders *et al.*, 1996) y donde el acceso a insumos (agroquímicos, fertilizantes, semillas) y maquinarias son limitados (Machado, 2009; Malézieux *et al.*, 2009; Degri *et al.*, 2014). La composición de los cultivos múltiples varía ampliamente de acuerdo a las diferencias culturales y ambientales de los países que adoptan estas prácticas agronómicas (Plucknett & Smith, 1986). Por ejemplo en África es común el intercultivo de maíz (*Zea mays* L., Poaceae), sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench, Poaceae) o mijo (*Panicum* y *Pennisetum* spp., Poaceae) con calabaza (*Cucurbita* spp., Cucurbitaceae), caupí (*Vigna unguiculata* (L.) Walp., Fabaceae), guandú (*Cajanus cajan* (L.) Millsp., Fabaceae), mandioca (*Manihot esculenta* Crantz, Euphorbiaceae) o poroto (*Phaseolus* spp., Fabaceae) (Schulthess *et al.*, 2004; Machado, 2009). En Asia, principalmente en Indonesia y Filipinas el intercultivo de maíz con guandú o batata (*Ipomea batatas* (L.) Lam., Convolvulaceae) es la práctica más difundida, mientras que en países de América Central como Honduras se destaca el cultivo de maíz combinado con frijol aterciopelado (*Mucuna pruriens* (L.) DC., Fabaceae) (van Wolfswinkel, 2006).

Los cultivos múltiples se consideran una estrategia cultural (Ijoyah, 2012), que permitiría disminuir el uso de insecticidas para mitigar el impacto de los invertebrados

plaga (Finch & Collier, 2011). La teoría ecológica sugiere dos hipótesis que explicarían la reducción de las plagas en dichos sistemas de producción. La primera, llamada *hipótesis de los enemigos naturales* (Root, 1973), postula que predadores y parasitoides son más efectivos en ambientes complejos, diversificados, que en ambientes simples. En cultivos múltiples, predadores y parasitoides provocan mayor mortalidad en las poblaciones de herbívoros que en monocultivos, debido a una tasa de ataque per cápita más elevada (mayor eficiencia de búsqueda) (Root, 1973). Además, los cultivos múltiples proveen condiciones más favorables para los enemigos naturales, reduciendo la probabilidad que abandonen el sistema o que se extingan localmente. Esas condiciones incluyen: (i) mayor distribución temporal y espacial de fuentes de néctar y polen, las que atraen a los enemigos naturales e incrementan su tasa reproductiva potencial; (ii) mayor cobertura del suelo proporcionada por el ambiente más diverso, lo que favorece principalmente a los predadores de hábito nocturno; (iii) mayor riqueza de herbívoros, proveyendo de fuentes alternativas de alimento cuando otras presas/huéspedes son escasas o bien se encuentran en estados de desarrollo no aptos como fuente de alimento (Risch, 1981). Los predadores generalistas serían beneficiados por la presencia de presas alternativas en sistemas diversos, mientras que los especialistas serían más abundantes en monocultivos, donde sus presas usualmente se encuentran en densidades elevadas y de fácil localización (Smith & Mc Sorley, 2000). Sin embargo, los parasitoides, al utilizar recursos florales, se beneficiarían en sistemas de cultivos múltiples (Lavandero *et al.*, 2005). La segunda hipótesis que explicaría la reducción de herbívoros plaga en cultivos múltiples es la *hipótesis de concentración de los recursos*, la que postula que los monocultivos ofrecen a los insectos fitófagos, principalmente a los especialistas, un recurso abundante y concentrado espacialmente (Greco *et al.*, 2002), además de una sincronía temporal, lo que favorece la localización de la planta hospedante, su reproducción, tasas de consumo más elevadas y al mismo tiempo disminuye la probabilidad que el herbívoro abandone o emigre del hábitat una vez que ha arribado a éste (Risch, 1983; Letourneau, 1987; Sholes, 2008). Ambos mecanismos pueden funcionar simultáneamente (Letourneau, 1987; Russell, 1989), por ejemplo, *Delia brassicae* (Wiedemann) (Diptera: Anthomyiidae) deposita menor cantidad de huevos en cultivos múltiples que en monocultivos, y los predadores reducen aún más su número por altas tasas de predación per cápita en los cultivos múltiples (Ryan *et al.*, 1980).

Vandermeer (1989) propuso otras dos hipótesis que explicarían cómo la diversidad vegetal puede afectar directamente a las plagas de los cultivos: (i) *la hipótesis del cultivo disruptivo*, que sería la perspectiva opuesta a la hipótesis de

concentración de los recursos, según la cual el cultivo acompañante no hospedante interfiere en la habilidad de la plaga (herbívoro especialista) para encontrar su planta hospedante, como consecuencia de una reducción en los estímulos químicos y visuales (Finch & Collier, 2000); (ii) *la hipótesis del cultivo trampa* en la que el daño causado por la plaga puede reducirse si el insecto resulta más atraído por el hospedante alternativo (Hokkanen, 1991).

Recientemente Finch & Collier (2011) manifestaron que las plantas acompañantes, que se desarrollan como cultivos trampa o intercultivos, pueden reducir las infestaciones de insectos plaga. Dicha disminución podría explicarse desde el punto de vista químico, en base a la estrategia *push-pull* (Pyke *et al.*, 1987) o *estímulo-disuasivo* (Miller & Cowles, 1990), o bien mediante una aproximación biológica, fundamentada en la teoría *parada apropiada/inapropiada* (Finch & Collier, 2000, 2011; Altieri & Nicholls, 2007). La primera estrategia involucra la manipulación del comportamiento de los insectos plaga y de sus enemigos naturales mediante la integración de estímulos visuales y señales químicas que, por un lado protegen el recurso alimenticio volviéndolo inapropiado o no atractivo para las plagas (*push*) y por el otro lado los concentra en otras áreas (cultivo trampa), lo que facilita su posterior eliminación (*pull*) (Cook *et al.*, 2007). La teoría *parada apropiada/inapropiada* enuncia que, en un sistema de intercultivo, cuando un insecto herbívoro se posa en una planta no hospedante en lugar de la planta hospedante, se afecta la secuencia de su comportamiento. Finch & Collier (2011) sugieren que los insectos utilizan una cadena con tres eslabones en la selección de la planta hospedante, el eslabón inicial gobernado por sustancias químicas volátiles (Nottingham & Coaker, 1985), el central vinculado a estímulos visuales (Finch & Collier, 2000) y el eslabón final mediado por químicos no volátiles (Simmonds *et al.*, 1994). Esta alteración en el comportamiento ocurre en los eslabones inicial y central, conduciendo a que los insectos se posen indiscriminadamente en hojas de las plantas hospedantes (paradas apropiadas) y de las plantas no hospedantes (paradas inapropiadas) evitando las superficies descubiertas de vegetación (suelo) (Finch & Collier, 2000; Altieri & Nicholls, 2004; Björkman, 2007).

Las investigaciones sobre la diversificación de la vegetación como una estrategia para reducir la densidad de insectos perjudiciales son numerosas y han arrojado resultados muy variables y/o contradictorios (Rämert, 2002). Una revisión de 62 artículos publicados en revistas científicas reflejó que en el 12% de los casos analizados aumentó la regulación de los herbívoros plaga, no hubo efecto en el 22%, hubo un efecto poco claro en el 13% de las investigaciones y en el 53% de los casos restantes el efecto de la diversificación vegetal disminuyó la regulación en los

herbívoros (Poveda *et al.*, 2008). No obstante, la siembra de dos cultivos en surcos separados con diferente arreglo espacial demostró ser el sistema productivo más efectivo en la disminución de la densidad de las plagas (15% sobre el total de casos). Por ejemplo, maíz o sorgo en intercultivo con determinadas especies de legumbres, mandioca, papa o mostaza resultaron combinaciones de cultivos que contribuyeron a la reducción de la incidencia de insectos barrenadores del tallo (Lepidoptera: Crambidae, Noctuidae y Pyralidae) en el cultivo principal (maíz o sorgo) (Duale & Nwanze, 1999; Nabirye *et al.*, 2003; Ndemah *et al.*, 2003; Schulthess *et al.*, 2004; Songa *et al.*, 2007; Wale *et al.*, 2007). Diversas estrategias relacionadas con la historia de vida, distintos efectos indirectos de las plantas no hospedantes e influencia del paisaje circundante, entre otros, podrían explicar la ausencia de resultados que apoyen el principio general de la diversificación vegetal en la regulación de los herbívoros (Muriel & Vélez, 2004).

La soja *Glycine max* (L.) Merrill (Fabaceae) es el principal cultivo de verano en Argentina y debido a la predominancia sostenida en la última década, se estaría sembrando en dos de cada tres años (Caviglia *et al.*, 2008). Esta forma de producción, caracterizada por la preponderancia de un único cultivo, plantea consecuencias negativas sobre la sustentabilidad, productividad y biodiversidad de los sistemas agrícolas (Benton *et al.*, 2003; Malézieux *et al.*, 2009). En este contexto, el intercultivo de soja con girasol *Helianthus annuus* L. (Asteracea) constituye una alternativa al cultivo puro de soja (Coll *et al.*, 2012) ya que se ha demostrado la factibilidad de llevar adelante un manejo satisfactorio de esta combinación de cultivos en campos de producción de la región pampeana, y en particular en el sudeste bonaerense (Calviño, 2005; De La Fuente *et al.* 2014). La estructura de este sistema consiste en la siembra de surcos de girasol distanciados a 1,56 m y dos líneas internas de soja sembradas simultáneamente o hasta los 50 días posteriores a la siembra del girasol. Por ejemplo en el sudeste de Buenos Aires, este cultivo se cosecha a fines del mes de febrero y la soja a mediados de abril (Calviño & Monzón, 2009). Los principios fisiológicos y agronómicos que sustentan esta tecnología son: (i) El girasol con mayor espaciamiento entre surcos (1,56 m) en comparación con el cultivo puro convencional (0.7 m) no reduce su rendimiento de manera significativa (Robinson *et al.*, 1980). Esto se debe a una respuesta fotomorfogenética que permite la expansión del follaje y la relativamente elevada captura de radiación (López Pereira *et al.*, 2017), (ii) La posibilidad de desplazar el periodo más crítico para la determinación del rendimiento de la soja en relación al del girasol y (iii) Siembra directa y cultivares de soja resistentes a glifosato e híbridos de girasol resistentes a las imidazolinonas permiten el control de malezas dentro de este sistema. La diferencia en la altura de los órganos

cosechables facilita la cosecha mecánica del girasol por sobre el cultivo de soja (Calviño & Monzón, 2009).

Desde el año 2006 se conducen diversos ensayos en la Estación Experimental del INTA Paraná, con la finalidad de generar conocimientos locales referidos fundamentalmente al desempeño productivo de los intercultivos en comparación con los cultivos puros (Díaz *et al.*, 2007; Caviglia, com. pers.). Los estudios se focalizaron en la captación y uso de los recursos (agua, radiación) y en la evaluación del efecto de diferentes combinaciones del número de hileras por cultivo sobre el rendimiento (Caviglia, 2007; López *et al.*, 2008). Sin embargo, no se incluyeron observaciones referidas al conjunto de factores bióticos limitantes (invertebrados plaga, malezas y enfermedades) que pudieran presentarse en este tipo de sistema así como tampoco su impacto en la productividad. A nivel nacional, son muy pocos los estudios vinculados a la incidencia de los mencionados factores biológicos en sistemas de cultivos múltiples (Cáceres *et al.*, 2007; De La Fuente *et al.* 2014). En lo referido a patologías de los cultivos, se demostró que el intercultivo de soja con maíz y de soja con girasol reduce la manifestación de enfermedades en soja en relación al cultivo puro. Asimismo, en girasol la tendencia sería similar pero de menor magnitud (Cáceres *et al.*, 2007). De La Fuente *et al.* (2014) encontraron que la composición de especies de malezas y de insectos difirió entre cultivos puros de girasol y de soja e intercultivo soja-girasol, ya que ciertas especies son características de cada sistema de cultivo. Los resultados de estos ensayos demostraron una respuesta opuesta a la esperada, ya que la riqueza total de morfoespecies de insectos (herbívoros y no herbívoros) fue significativamente más elevada en cultivo puro de soja que en los otros tratamientos. Con respecto al hábito alimenticio la riqueza y la abundancia de herbívoros no difirió entre sistemas de cultivo, pero sí la riqueza y la abundancia de insectos no herbívoros fue significativamente mayor en cultivo de soja que en intercultivo. En este último caso, tales diferencias podrían explicarse por las variaciones en la estructura de la comunidad de malezas, en la estructura de la canopia y por las prácticas de control de plagas específicas de cada cultivo. No obstante, el número total de especies presentes fue significativamente menor en cultivo puro de girasol que en intercultivo y en cultivo puro de soja.

En Entre Ríos, el girasol y la soja son las principales plantas hospedantes de *Rachiplusia nu* (Lepidoptera: Noctuidae: Plusiinae), conocida vulgarmente como “oruga medidora” o “isoca semimedidora del girasol” (Saluso, 2007; Saluso *et al.*, 2007). En la campaña agrícola 2017/2018 se sembraron 1.209.400 ha de soja y 1.500 ha de girasol, representando el 72,25% y el 0,09% de la superficie total sembrada con cultivos de verano en la provincia, respectivamente (SIBER, 2018).

Cuando se considera al intercultivo como una opción para reducir la oviposición de una plaga en un cultivo, es fundamental tener conocimiento acerca de la estrategia de oviposición del insecto. Si el intercultivo influyera en el comportamiento de oviposición de un herbívoro de tal manera que un número menor de huevos fueran depositados y la fecundidad alcanzada fuera menor que la fecundidad potencial, entonces esto podría constituir una ventaja en comparación con el monocultivo (Åsman & Ekbom, 2006). La presencia de plantas no hospedantes podría interferir con el comportamiento de oviposición (Finch & Collier, 2000), debido a que las hembras grávidas podrían cambiar la disposición, localización o número de huevos depositados en la planta hospedante en compañía de especies vegetales no hospedantes (Hook & Johnson, 2003). Tal es el caso de *Delia floralis* (Fallén) (Diptera: Anthomyiidae), especie en la que la reducción en la oviposición en parcelas de intercultivo repollo-trébol rojo, comparado con monocultivo de repollo, fue de alrededor del 50%. La presencia de trébol rojo actúa como un cultivo disruptivo, dificultando la visión de la hembra para localizar su hospedante (Björkman, 2007). Similar situación tuvo lugar en intercultivo maní-mijo, donde el desove de hembras de *Sesamia calamistis* (Hampson) y *Busseola fusca* (Fuller) (Lepidoptera: Noctuidae) disminuyó considerablemente debido a la presencia del cultivo de maní que obstaculizó la posibilidad que la mariposa encontrara su hospedante, al actuar como barrera vegetal (Degri *et al.*, 2014). También puede ocurrir un retraso en el desove (Finch & Collier, 2000), ya sea por un incremento en la emigración (Hooks & Johnson, 2003) o por retención de huevos cuando la hembra invierte más tiempo buscando un sitio de oviposición. El posible efecto de un intercultivo será optimizado si ese retraso en la oportunidad de desovar también reduce el periodo reproductivo de la hembra (Åsman & Ekbom, 2006). En ocasiones, la colonización inicial de parcelas con monocultivos e intercultivos por parte de un determinado herbívoro puede ser similar y en estas circunstancias, la reducción en la oviposición se debería a los factores que estarían operando luego que el insecto ha arribado al cultivo, los que se relacionan con atributos biológicos y de comportamiento del herbívoro (Björkman, 2007). Por ejemplo, Havukkala & Virtanen (1985) dividen el proceso comportamental de *D. floralis* luego de haber arribado al cultivo en 6 etapas: (I) Posarse sobre la hoja; (II) Extender la proboscis y examinar la superficie foliar; (III) Caminar sobre la hoja; (IV) Descender por el tallo; (V) Desplazarse en el suelo cerca de la base de tallo; (VI) Desovar. El proceso de oviposición puede abortarse en cualquiera de las etapas descriptas, pero lo que resulta crucial para aceptar o rechazar una planta como sitio de desove son las señales percibidas inmediatamente luego de posarse en la hoja (Hopkins *et al.*, 1996, 1999). Se ha sugerido que el número de paradas “apropiadas” que un insecto realice

durante la secuencia comportamental es clave para determinar el valor del intercultivo en la atenuación de la incidencia de una plaga (Finch & Collier, 2000).

En el caso particular del intercultivo girasol-soja, cabe preguntarse cómo sería el comportamiento de *R. nu* si tiene disponible en una misma área y en forma simultánea ambos cultivos hospedantes. En este escenario, la capacidad selectiva de este lepidóptero jugaría un rol protagónico. El girasol y la “oruga medidora” son nativos del continente americano (Angulo & Weigert, 1974; Díaz-Zorita *et al.*, 2003), mientras que la soja tiene origen en Asia y si bien las primeras introducciones en América se realizaron a fines del Siglo XIX, recién se arraigó en la década de 1960 (Giorda, 1997). Surge así la primera hipótesis de esta tesis. *R. nu* es una especie polífaga, que por coincidir en distribución geográfica con *H. annuus* ha tenido más tiempo para adaptarse a esta especie que a *G. max*, hospedante con la cual ha estado en contacto tan sólo en las últimas cinco décadas. Entonces, *R. nu* estaría mejor adaptada a girasol y tendría mayor eficacia biológica alimentándose en *H. annuus* que en *G. max*. La asociación en tiempo evolutivo entre un herbívoro y una planta hospedante conduciría a una acentuada preferencia a través de los mecanismos de tolerancia, desintoxicación y reconocimiento (Mostafa *et al.*, 2011; Doddala *et al.*, 2016). La hipótesis de la *oviposición óptima*, postula que las hembras maximizan su eficacia biológica (*fitness*) depositando los huevos en plantas hospedantes en las cuales el desempeño (*performance*) de la descendencia es mejor (Jaenike, 1978). La selección de la planta hospedante como sitio de oviposición es particularmente crucial para los lepidópteros, porque generalmente las larvas neonatas son relativamente inmóviles y dependen de la selección que haya realizado la hembra adulta del adecuado recurso alimenticio (Renwick & Chef, 1994; Mayhew, 2001; Janz, 2002). La predicción de esta secuencia deductiva es que *R. nu* tiene preferencia por desovar en *H. annuus* respecto a *G. max*, lo que se traduciría en que la densidad de huevos por área foliar será mayor en *H. annuus* que en *G. max*.

La hipótesis y su correspondiente predicción formuladas en el párrafo anterior, derivan en una segunda hipótesis. La selección de un hospedante implica que el insecto fitófago acepta o rechaza una determinada especie vegetal (Wiesenborn & Trumble, 1988). Las plantas emiten señales volátiles que son utilizadas por el herbívoro para diferenciar, por ejemplo, plantas hospedantes de las no hospedantes, o plantas de diversa calidad, y evaluar si son adecuadas para desovar, cuando tiene disponible diferentes especies vegetales (Anderson & Anton, 2014). Los insectos pueden detectar señales químicas a determinadas distancias, dependiendo de diversos factores. Sobre la base de la primera hipótesis y frente a dos escenarios productivos distintos, cultivos puros e intercultivo, la preferencia de oviposición podrá

expresarse con mayor intensidad en un escenario de intercultivo. Cuando una hembra grávida encuentra en su ruta de vuelo un cultivo puro de una u otra especie y está apremiada por la necesidad intrínseca de depositar sus huevos, no tendrá opción para seleccionar su sitio de oviposición y no expresará su preferencia de oviposición. Por lo tanto, en un escenario de cultivos puros se espera que no haya diferencias de densidad de huevos entre ambos cultivos. Sin embargo en un escenario de intercultivo, donde la hembra tiene dos hospedantes disponibles en estrecha proximidad espacial, las señales químicas y/o visuales provenientes de ambos cultivos están dentro del alcance de percepción del insecto y por lo tanto se espera que la capacidad selectiva se exprese, desembocando en diferencias en la densidad de huevos a favor del girasol.

Efecto de los tricomas foliares en la preferencia de oviposición de *R. nu*

A otra escala de análisis, para comprender la relación insecto-plaga-cultivo agrícola se requiere un conocimiento detallado de la estructura de la planta y de los compuestos químicos que están involucrados en los mecanismos de resistencia a los insectos perjudiciales (Schoonhoven *et al.*, 2005). Los caracteres de resistencia afectan varios aspectos del comportamiento y del desempeño de los herbívoros e influyen en uno o más estados de su ciclo de vida. La oviposición de las hembras y las tasas de alimentación, desarrollo y supervivencia de las larvas también pueden reducirse (Handley *et al.*, 2005).

La resistencia de las plantas a los insectos se clasifican en: tolerancia o habilidad para soportar una determinada cantidad de daño sin disminuir el rendimiento, antibiosis o efecto negativo sobre el desarrollo y antixenosis o no preferencia (Painter, 1941; Kogan & Ortman, 1978; Smith, 2005; Parrot *et al.*, 2008). La antibiosis alude a la capacidad de la planta hospedadora para interferir en la fisiología y en el ciclo de vida de los organismos plaga, disminuyendo la tasa de crecimiento, la eficacia biológica y el tamaño corporal e incrementando la mortalidad, especialmente en el primer estadio de desarrollo. La antixenosis hace referencia al efecto que la planta hospedadora tiene sobre el comportamiento del insecto, desalentando la alimentación y/o la oviposición (Smith, 2005; Parrot *et al.*, 2008). Esta involucra algún tipo de defensa estructural o química (Handley *et al.*, 2007). La defensa estructural o física se define como cualquier característica morfológica o anatómica que le confiere una ventaja en la aptitud biológica de la planta, impidiendo que los herbívoros desoven y/o se alimenten de ella. Varios tipos de espinas, ceras superficiales, modificaciones de la pared celular y los

tricomas integran la mencionada defensa estructural (Boege & Maquis, 2005), la que también se conoce como defensa constitutiva (Santamaria *et al.*, 2013).

Los tricomas son apéndices unicelulares o multicelulares que nacen de las células epidérmicas de numerosas especies de plantas (Werker, 2000). Se han descrito más de 300 tipos de tricomas (Wagner, 1991) debido a la gran diversidad de formas, tamaño, citología, localización y función (López Torres, 1995; Spring, 2000; Schoonhoven *et al.*, 2005). Los tricomas se clasifican en glandulares y no glandulares (Schoonhoven *et al.*, 2005). Los primeros producen, almacenan y secretan una cantidad importante de diferentes metabolitos secundarios (Fahn, 2000; Schilmiller *et al.*, 2008). Los tricomas no glandulares se diferencian entre sí principalmente por características morfológicas (Werker, 2000). Este tipo de estructuras frecuentemente incrementan la resistencia de las plantas al daño de los insectos ya que proporcionan una barrera efectiva que dificulta el movimiento y el contacto de las larvas neonatas o de insectos de reducido tamaño, con la superficie de la planta (Schoonhoven *et al.*, 2005). Revisiones realizadas por Bergman & Tingey (1979) determinaron que los tricomas no glandulares podrían causar daño físico o irritación en los insectos, mientras que los glandulares tendrían efectos tóxicos o adhesivos.

La pubescencia afecta la oviposición, la locomoción, la alimentación, la ingestión y el nivel de daño de los insectos (Dent, 2000; Nautiyal *et al.*, 2015). En lo que respecta a la oviposición, la pubescencia puede evitar que las hembras depositen los huevos, ya que compromete la adherencia de éstos al sustrato vegetal (Handley *et al.*, 2005) o bien favorecer el desove al conferirles un mejor anclaje (López Torres, 1995). Además, los huevos que son depositados en la base de los tricomas, en aquellas superficies foliares densamente pubescentes, son menos susceptibles a ser parasitados, debido a que la eficiencia de búsqueda del parasitoide disminuye con el incremento en la densidad de tricomas (Heinz & Zalom, 1995; Greco *et al.*, 1998; Cetintas & McAuslane, 2009).

Las hojas de girasol poseen tricomas metabólicamente inactivos llamados tricomas no glandulares y dos tipos de tricomas glandulares: los tricomas glandulares capitados y los tricomas glandulares lineales. Estos últimos se encuentran particularmente sobre las venas (Aschenbrenner *et al.*, 2013).

Dentro de los cultivos extensivos, la soja es una de las principales especies en la que se ha demostrado una vinculación entre los tricomas y la resistencia a determinados insectos (Khan *et al.*, 1986). Las hojas de cultivares comerciales de soja presentan tricomas uniseriados, los que normalmente se hallan inclinados levemente hacia el extremo apical y los bordes del foliolo (Lersten & Carlson, 2004). Las hojas

expandidas muy jóvenes tienen dos tipos de pelos epidérmicos, los tricomas glandulares y los no glandulares. Los tricomas no glandulares son largos y forman una cobertura densa en la superficie expuesta de los folíolos. Los tricomas glandulares son estructuras cortas consistentes en cinco células en arreglo lineal. Son más abundantes en la superficie abaxial de las hojas jóvenes pero también se localizan en la cara adaxial. En hojas maduras hay muy poca cantidad de tricomas glandulares posiblemente debido a la senescencia de las mismas (Franceschi & Giaquinta, 1983). Los lepidópteros de importancia económica pueden responder de forma diferente e inclusive opuesta a determinadas características morfológicas de las plantas (Chiang & Norris, 1985). Por ejemplo, folíolos de soja de cultivares con densidad de tricomas normal o abundante, comparados con plantas sin pubescencia son seleccionados como sustrato de oviposición por adultos de *Chrysodeixis* (= *Pseudoplusia*) *includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) y *Anticarsia gemmatilis* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae) (Lambert *et al.*, 1992). En contraposición, *Spilosoma obliqua* (Walker) (Lepidoptera: Arctiidae) reduce la oviposición en isolíneas de soja con pubescencia normal y densa (Bhattacharyya & Ram, 2001). La selección de un cultivar particular de soja como sitio de oviposición no solo dependerá de la densidad de los tricomas sino también de la longitud, forma y orientación de los mismos (Broersma *et al.*, 1972; Dent, 2000; Permana *et al.*, 2012).

En base a estas afirmaciones cabe indagar si la densidad de tricomas en las hojas de soja y girasol explica la preferencia de oviposición de las hembras de *R. nu* por alguna de las superficies foliares, haz o envés. Por lo tanto se propone como tercera hipótesis que la densidad de tricomas de las hojas de girasol y de los folíolos de soja influye en la preferencia de oviposición de las hembras de *R. nu*. Se predice mayor densidad de huevos por unidad de área foliar en superficies con menor abundancia de tricomas.

OBJETIVOS

1. Evaluar la preferencia de oviposición de hembras de *Rachiplusia nu* en intercultivo soja-girasol y en los respectivos cultivos puros, en condiciones naturales.
2. Relacionar la ubicación preferencial de los huevos de *Rachiplusia nu* con la densidad de tricomas en las hojas de girasol y en los folíolos de soja.
 - 2.1. Evaluar si existen diferencias en el número de tricomas por unidad de área foliar en el haz respecto del envés dentro de cada cultivo: girasol y soja.
 - 2.2. Determinar si la proporción de tricomas en las hojas de girasol difiere de la proporción de tricomas en los folíolos de soja.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se condujeron en lotes de producción pertenecientes a la Estación Experimental Agropecuaria del INTA Paraná (31°51'08.10" S; 60°31'37.79" O; 106 m.s.n.m.), durante dos campañas agrícolas 2008/2009 y 2009/2010, sobre un suelo Argiudol Ácuico Serie Tezanos Pinto. Con la finalidad de mejorar la eficiencia de producción de los intercultivos se seleccionaron genotipos de soja y girasol con ciclos contrastantes de tal manera que no compitieran por los mismos recursos al mismo tiempo (Ofori & Stern, 1987).

1. Características agronómicas de los cultivos

Híbrido de Girasol: se sembró el híbrido NK 46 de Syngenta, de ciclo intermedio a corto, con tecnología Clearfield® (CL), es decir con tolerancia al herbicida Clearsol® (principio activo: Imazapir), perteneciente a la familia de las imidazolinonas, que se utiliza en post-emergencia temprana, con acción residual, para el control de malezas de hoja ancha, perennes y gramíneas anuales. Este híbrido se presenta al mercado con un rendimiento promedio de 1700 kg.ha⁻¹ y 52,7% de aceite (Peltzer & Cabada, 2010).

Variedad de Soja: Se seleccionó la variedad A 8000 RG de Nidera, resistente al herbicida glifosato, de Grupo de Madurez VIII. Esta variedad se caracteriza por alto rendimiento, buen comportamiento al vuelco, adaptación a menor espaciamiento entre hileras y a distintos ambientes. Su hábito de crecimiento es determinado, con un ciclo de 180 días a maduración, 118 cm de altura, planta compacta, muy ramificada (Nidera, 2005).

2. Diseños de los experimentos

En el primer ciclo productivo, ambos cultivos se sembraron el 9 de enero de 2009, con una sembradora experimental Forti®, para grano grueso y siembra directa, de 4 surcos, con un ancho de labor de 2,08 m. La distancia entre surcos fue de 0,52 m. Se consideraron tres tratamientos: (i) cultivo puro de soja; (ii) cultivo puro de girasol; (iii) intercultivo girasol-soja, con un arreglo espacial de un surco de girasol y dos surcos de soja (1 x 2) (Figuras 2.1. y 2.2). La elección de este arreglo se fundamentó en: (a) la siembra de girasol a un distanciamiento de 1,56 m no afecta de manera significativa su rendimiento (Robinson *et al.*, 1980; López Pereira *et al.*, 2008), (b) las labores culturales, principalmente siembra y cosecha, se simplifican (Calviño & Monzón, 2009) y, (c) el intercultivo girasol-soja (1 x 2) produce mayores rendimientos en comparación

con los respectivos cultivos puros, por el uso más eficiente de los recursos (Echarte *et al.*, 2011; Coll *et al.*, 2012).

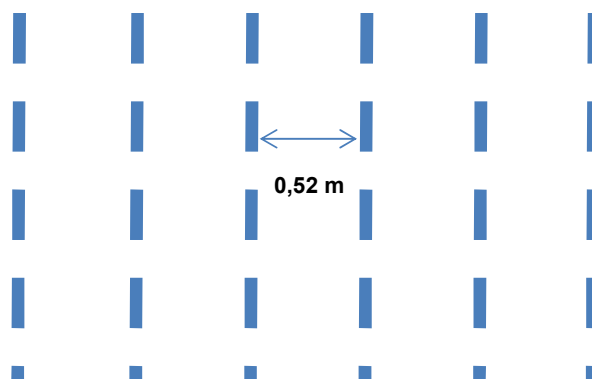
El experimento tuvo tres réplicas por tratamiento (Figura 2.3.). Cada parcela (unidad experimental) presentó una superficie de 160 m². La densidad de siembra para soja fue de 25 semillas.m⁻¹ y de girasol de 4 semillas.m⁻¹. Como consecuencia de la intensa sequía, para favorecer la emergencia de los cultivos se efectuó riego suplementario mediante un regador giratorio de tres brazos que se cambió de lugar cada tres horas.

En el segundo año se sembraron los mismos tratamientos, en dos fechas diferentes (29 de noviembre de 2009 y 23 de enero de 2010), incrementándose a 4 el número de réplicas y a 750 m² la superficie de cada parcela (Figura 2.4.). Estos ensayos se sembraron con máquina comercial Giorgi® de 5 surcos de ancho de labor, a una densidad de 23,8 semillas m de soja y 3,9 semillas m de girasol y un distanciamiento entre líneas de 0,52 m.

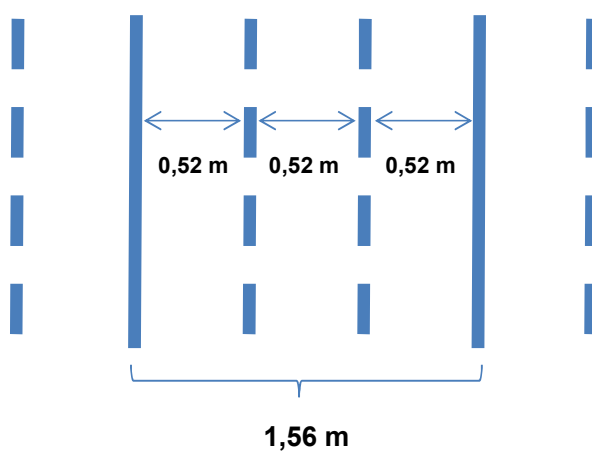
Con el propósito de no interferir en la dinámica natural de *R. nu*, en ninguna de los dos ciclos agrícolas se aplicaron insecticidas ni fungicidas. Solamente se controlaron las malezas mediante la utilización de diferentes principios activos (glifosato, cletodim, cloransulam metil, dicamba) y dosis en función de la maleza predominante. Además, en las parcelas sembradas con girasol se procedió al desmalezado manual con azada, para la extracción de plantas de *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist (Asteraceae) ("rama negra" o "carnicera") debido a la imposibilidad de utilizar glifosato, ya que el cultivo de girasol es susceptible a este herbicida.

Luego de alcanzar la madurez fisiológica, los cultivos se cortaron mecánicamente y las macroparcels experimentales permanecieron en barbecho químico hasta el siguiente ciclo agrícola.

Cultivo puro de soja



Intercultivo girasol-soja



Cultivo puro de girasol

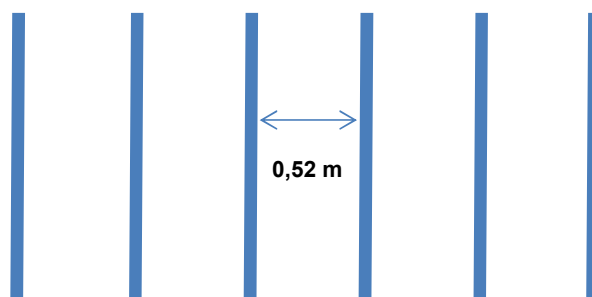


Figura 2.1. Esquema del arreglo espacial en intercultivo y cultivos puros. Línea continua representa la hilera de girasol y la línea punteada corresponde a la hilera de soja.



Figura 2.2. A: Intercultivo girasol-soja en etapas vegetativas; B: Cultivo puro de soja en estado vegetativo y C: Cultivo puro de girasol en periodo reproductivo.

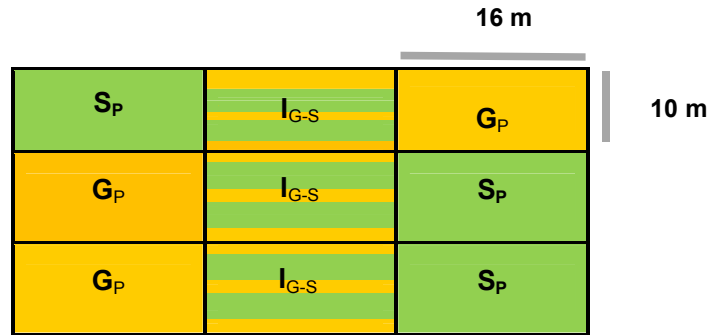


Figura 2.3. Esquema del experimento en el ciclo agrícola 2009. G_p: Girasol puro; S_p: Soja puro; I_{G-S}: Intercultivo Girasol (franjas anaranjadas) x Soja (franjas verdes).

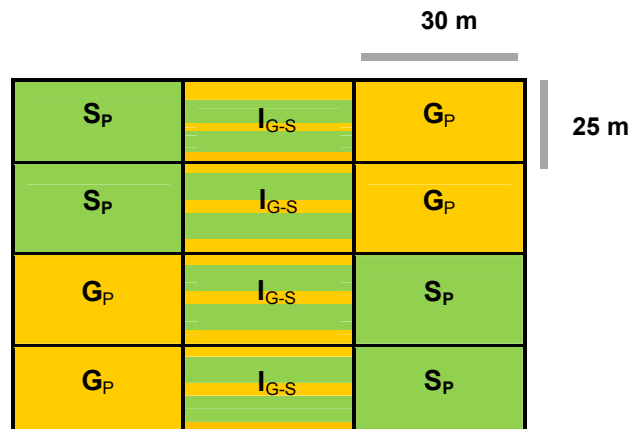


Figura 2.4. Esquema de los experimentos en el ciclo agrícola 2010 (1^{ra} y 2^{da} fecha de siembra). G_p: Girasol puro; S_p: Soja puro; I_{G-S}: Intercultivo Girasol (franjas anaranjadas) x Soja (franjas verdes).

3. Método de muestreo

Con la finalidad de estimar la densidad de huevos de *R. nu* por unidad de área foliar se realizaron muestreos cada 7 o 10 días, según las condiciones ambientales. Se siguió el mismo método en los dos ciclos agrícolas en que se condujeron los experimentos. Se extrajeron folíolos centrales de hojas trifoliadas de soja (Figura 2.5) y hojas de girasol (Figura 2.6) del estrato medio superior de plantas seleccionadas al azar. Los muestreos se realizaron en dicho estrato debido a los antecedentes bibliográficos, que describen la distribución vertical de los huevos de *R. nu*, en la

estructura de las plantas de soja (Nasca & Sáenz, 1995; Pansera de Araújo *et al.*, 1999) y girasol (Iannone & Leiva, 1994).

Los folíolos de soja y las hojas de girasol se colocaron en bolsas plásticas rotuladas y se conservaron en *freezer* hasta el momento en que se descongelaron para llevar adelante el recuento de huevos, bajo microscopio estereoscópico.



Figura 2.5. Técnica de corte del folíolo central de una hoja de soja.



Figura 2.6. Técnica de corte de una hoja de girasol.

Se registraron las siguientes variables: número de huevos de *R. nu*, su ubicación (haz o envés), distribución en la superficie dividiendo la hoja en cuatro

cuadrantes, en sentido horario (secciones I, II, III y IV; Figura 2.7), y las dimensiones foliares (ancho y largo en cm), medido con regla, para determinar el área foliar.

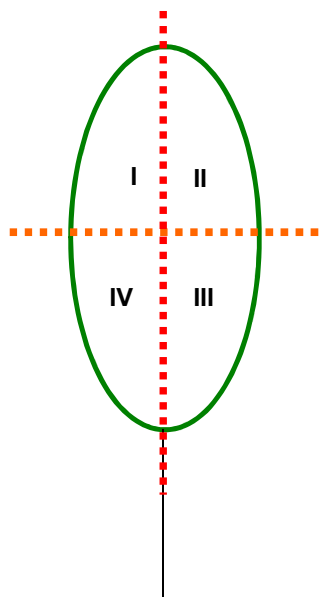


Figura 2.7. Esquema de una hoja/foliolo mostrando la división en los cuadrantes analizados (I al IV).

En cada unidad experimental se extrajeron 100 folíolos de soja y 50 hojas de girasol, incluyendo el pecíolo correspondiente. En la Tabla 2.1 se detallan la fecha de siembra, la duración del ensayo, la cantidad de estados fenológicos en que se realizaron los muestreos y el número total de unidades muestrales, por cultivo y por ciclo agrícola.

Para la determinación de los estados fenológicos del cultivo de soja se utilizó la escala de Fehr & Caviness (1977) y para los del cultivo de girasol la escala de Schneiter & Miller (1981). Ambos métodos descansan en la caracterización de la morfología externa de la planta.

En 2009 los muestreos de hojas de girasol y folíolos de soja comenzaron a los 46 días posteriores a la siembra, debido a la emergencia irregular de los cultivos como consecuencia de la intensa sequía ocurrida durante los meses de diciembre de 2008 y enero de 2009. El registro de precipitaciones para dichos meses fue de 25,4 mm y 34,7 mm, respectivamente, es decir 22% y 29% del promedio histórico para Paraná (1934-2016, Observatorio Agrometeorológico de la EEA Paraná).

Tabla 2.1. Información referida a los muestreos realizados en cada ciclo agrícola (2009 y 2010).

Fecha de siembra	Duración del ensayo ^{*1}	Cantidad de Estados Fenológicos (E.F.) ^{*2}	N° de unidades muestrales
1^{er} C. agrícola 9/01/09	24/02 - 23/04	G: V9-R9 (9 E.F.) S: V12-R6 (7 E.F.)	G: 2700 h. S: 5400 f.
2^{do} C. agrícola			
1^{ra} fecha: 29/11/09	17/12 - 24/02	G: V4-R9 (10 E.F.) S: V2- R5 (10 E.F.)	G: 4000 h. S: 8000 f.
2^{da} fecha: 23/01/10	19/02 - 26/04	G: V10-R9 (8 E.F.) S: V5-R6 (8 E.F.)	G: 3200 h. S: 6400 f.

G: girasol; S: soja; h. hojas; f. folíolos.

^{*1}Corresponde a la primera y última fecha en que se realizaron los muestreos.

^{*2}Corresponde al primer y último estado fenológico muestreado. Los números entre paréntesis se refieren a la cantidad de estados fenológicos en que se realizaron los muestreos.

4. Identificación de los huevos de *Rachiplusia nu*

La identificación de los huevos de *R. nu* se realizó bajo microscopio estereoscópico (20X) teniendo en cuenta la forma del área micropilar (aspecto “arrosetado”) y de las celdas primarias (simulando pétalos), la disposición y el número de costillas longitudinales o radiales (aproximadamente 35-40, poco notorias), de acuerdo a las descripciones e imágenes de Angulo & Weigert (1974), Fichetti (2009, datos no publicados, Figura 2.8) y Barrionuevo (2011).

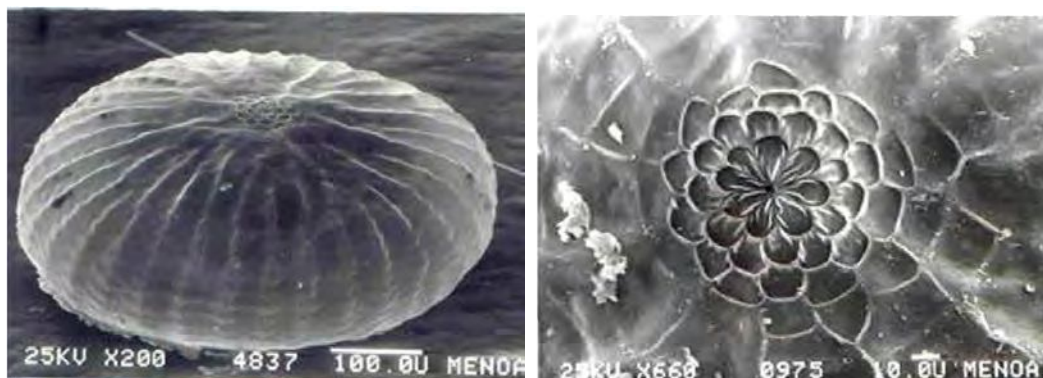


Figura 2.8. Disposición de las costillas y área micropilar de un huevo de *Rachiplusia nu* (Fichetti, datos no publicados).

5. Estimación del Área Foliar

5.1. Girasol

Para estimar la superficie foliar de las hojas del híbrido de girasol CL 46 K se utilizaron las ecuaciones 1 y 2 propuestas por Aguirrezábal *et al.* (2001):

Para valores de X (ancho) entre 0 y 21 cm:

$$Y = 0,8 X + 0,697 X^2 \quad (\text{Ec. 1})$$

Para valores de X (ancho) superiores a 21 cm:

$$Y = - 15,2 + 4,297 X + 0.565 X^2 \quad (\text{Ec. 2})$$

donde Y es la superficie de la hoja.

5.2. Soja

En ausencia de ecuaciones universales para la estimación del área foliar (AF), se procedió a ajustar una ecuación específica para el cultivar de soja A 8000. Para ello se extrajeron 20 plantas en tres estados fenológicos, uno vegetativo (V6: sexta hoja trifoliada totalmente desarrollada) y dos reproductivos (R2: una flor abierta en alguno de los nudos superiores del tallo principal y R5: una semilla de al menos 3 mm de diámetro en una vaina situada en alguno de los cuatro últimos nudos del tallo principal que tenga una hoja totalmente desarrollada). Los folíolos del tallo principal de cada planta se cortaron y el área foliar se midió con el Medidor de Área Li-Cor 3100 (Li-Cor, inc. Lincoln, Nebraska-USA). Luego de esta operación y en forma inmediata se midió, con una regla, ancho y largo de 108, 247, y 216 folíolos para los estados V6, R2, y R5, respectivamente. Se utilizaron ambos parámetros, largo y ancho, ya que constituye una medición más robusta para estimar el área foliar. La estimación del área foliar para el cultivo de soja se presenta más abajo en el punto 7, análisis de datos.

6. Pilosidad

La densidad de tricomas se determinó mediante el recuento del número de pelos en discos de 0,5 cm de diámetro (Lambert *et al.*, 1992) extraídos de 105 folíolos expandidos de soja (A 8000 RG) y 105 hojas de girasol (NK 46), mediante un microscopio estereoscópico con un aumento de 20X. El corte de dichos discos se efectuó en la zona próxima al pecíolo (McAuslane *et al.*, 1995) y en el espacio comprendido entre las nervaduras principales.

Los folíolos de soja se tomaron de la mitad superior de plantas seleccionadas al azar, desarrolladas en microparcels experimentales de 4 surcos de ancho por 1 m de longitud, que se encontraban en el estado fenológico de R5, una semilla de al menos 3 mm de diámetro en una vaina situada en alguno de los cuatro últimos nudos del tallo principal que tenga una hoja totalmente desarrollada (Fehr & Caviness 1977).

Para garantizar un estado de desarrollo similar al del cultivo de soja, el girasol se sembró en macetas, las que se ubicaron en condiciones naturales. Las hojas de girasol se obtuvieron de la mitad superior de las plantas en estado fenológico R5.1, 10% del capítulo en antesis de las flores tubuladas (Schneider & Miller 1981).

7. Análisis de datos

7.1. Estimación del Área Foliar para el cultivo de soja

Con los datos de cada estado fenológico, mediante análisis de regresión lineal se ajustó la ecuación $\ln (AF) = a + \ln (A \times L)$, donde AF es el área foliar, a la ordenada al origen, mientras que A y L representan el ancho y la longitud (centímetros) máximos de la lámina foliar, respectivamente. Por otra parte, se ajustó una ecuación con los datos integrados de los tres estados fenológicos. Con posterioridad se comparó el porcentaje de error de sub y sobreestimación, al reemplazar cada uno de los modelos individuales por el modelo global. Debido a que el porcentaje de error nunca llegó al 3%, para la determinación del área foliar se utilizó el modelo global (Ec. 3).

$$\ln AF = -0,112 + (0,94. \ln (L \times A)) \quad (Ec. 3)$$

Los datos de dimensiones foliares (largo y ancho) de cada uno de los folíolos de soja colectados en los respectivos muestreos se incluyeron en la Ec. 3 para determinar el área foliar correspondiente y así obtener la información del número de huevos.cm⁻².

7.2. Densidad de huevos de *R. nu* por unidad de área foliar

Debido a que el número de huevos de *R. nu* por unidad de área foliar constituye una variable discreta (Sileshi, 2006), los datos experimentales se analizaron en el marco teórico de los modelos lineales y generalizados mixtos (MLGM), ya que estos permiten procesar datos con estructuras de dependencia, desbalances y falta de

normalidad. Estos modelos contienen efectos fijos distintos a μ y efectos aleatorios diferentes a los errores aleatorios (Balzarini *et al.*, 2004).

Se asumió una distribución Poisson, utilizando el logaritmo de la media para la función de enlace ($\log(\mu) = \mu + \beta x$). Debido a la existencia de heterogeneidad entre las observaciones, los datos se corrigieron por sobredispersión permitiendo de esta manera modelar una distribución Poisson aun cuando la variancia haya sido mayor que la media. El modelo se ajustó utilizando el procedimiento GLIMMIX de SAS (2004).

Las variables fijas consideradas en el modelo fueron: (I) Ciclo agrícola (2009, 1^{ra} y 2^{da} fecha de siembra de 2010); (II) Cultivo (girasol y soja) y (III) Escenario (intercultivo y cultivo puro de girasol y soja). El estado fenológico fue la variable aleatoria. Cabe destacar que los muestreos se realizaron en diferentes estados fenológicos de los cultivos, los que difirieron entre los tres ciclos estudiados (Tabla 1). La variable respuesta fue n° de huevos.cm⁻².

Estructura del modelo estadístico

Se partió del supuesto que el número de huevos.cm⁻² presenta una distribución probabilística Poisson, de forma tal que $Y_{ijkl} \sim P(\lambda_{ijkl})$.

La Esperanza de esta variable respuesta es $E(Y_{ijkl}) = \lambda_{ijkl}$ y su varianza es $V(Y_{ijkl}) = \lambda_{ijkl}$, por lo tanto $\lambda_{ijkl} = \mu_{ijkl}$.

Función de enlace: logarítmica

$$n_{ijkl} = \log(\mu_{ijkl})$$

Entonces el modelo planteado fue:

$$\mu_{ijkl} = E[y_{ijkl} | v_{ijk}, x_{ijk}]$$

μ_{ijkl} es la media condicional de y_{ijkl} dados los efectos aleatorios v_{ijk} y los efectos fijos x_{ijk} .

$$n_{ijkl} = \log(\mu_{ijkl}) = a + \alpha_i + \beta(\alpha)_{ji} + \gamma(\beta)_{kj} + b_1 \times x_{ijk} + b_2 \times x_{ijk}^2 + e_{ijkl} \quad (\text{Ec. 4})$$

Donde:

a Es la intercepción del modelo

α_i Es el efecto fijo del ciclo.

$\beta(\alpha)_{ij}$ Es el efecto fijo del escenario dentro del ciclo.

$\gamma(\beta)_{kj}$ Es el efecto fijo del cultivo dentro del escenario.

b_1 Es el coeficiente del modelo en relación a los días desde la siembra.

b_2 Es el coeficiente término cuadrático del modelo en relación a los días desde la siembra. El término e_{ijkl} representa los errores con una distribución normal con media 0 y varianza σ^2 .

El modelo contiene efectos aleatorios asociados a la intercepción, de tal manera que tiene las siguientes componentes:

$$a = a_0 + a_{1ijklm} + a_{2l}$$

a_0 Es la intercepción común.

a_{1ijklm} Representa el efecto aleatorio de haber seleccionado una hoja perteneciente al ciclo i -ésimo, del escenario j -ésimo, en el cultivo k -ésimo, del l -ésimo estado fenológico, de la m -ésima repetición.

a_{2l} Representa el efecto aleatorio del estado fenológico l -ésimo

Ambos efectos tienen una distribución normal con media μ_z y varianza $\sigma_a = G$.

7.3. Ubicación de los huevos en la hoja

Los efectos del cultivo (girasol o soja), la posición (haz o envés) y la sección (I, II, III y IV; Figura 2.7.) en el número de huevos por hoja se evaluaron mediante la aplicación de una Regresión Poisson, previa transformación de la variable respuesta a número de huevos cada 1000 hojas evaluadas.

Modelo de Regresión de Poisson ajustado

$$\text{Log}(\lambda) = \beta_0 + \beta_1 * X_1 + \beta_2 * X_2 + \beta_3 * X_3 + \beta_4 * X_4 + \beta_5 * X_5$$

donde:

λ Es el parámetro de la distribución Poisson que representa el número de huevos promedio cada 1000 hojas evaluadas.

β_0 es la ordenada al origen del modelo de regresión.

β_1 , β_2 , β_3 , β_4 y β_5 son los parámetros que describen la influencia de las variables auxiliares en el modelo de regresión.

X_1 es una variable auxiliar que toma el valor 1 cuando el cultivo es girasol y 0 en el caso que sea el cultivo de soja.

X_2 es una variable auxiliar que toma el valor 1 cuando la posición de la hoja es envés y 0 en el caso de que sea haz.

X_3 es una variable auxiliar que toma el valor 1 cuando la sección de la hoja es la "I" y 0 en caso contrario.

X_4 es una variable auxiliar que toma el valor 1 cuando la sección de la hoja es la "II" y 0 en caso contrario.

X_5 es una variable auxiliar que toma el valor 1 cuando la sección de la hoja es la "III" y 0 en caso contrario.

Con la finalidad de conocer si existen diferencias significativas entre las diferentes secciones de las hojas se plantearon los siguientes contrastes entre los parámetros del modelo, utilizando la metodología de Bonferroni.

Contraste 1:

$$H_0): \beta_3 = \beta_4$$

$$H_1) \beta_3 \neq \beta_4$$

Contraste 2:

$$H_0): \beta_3 = \beta_5$$

$$H_1) \beta_3 \neq \beta_5$$

Contraste 3:

$$H_0): \beta_4 = \beta_5$$

$$H_1) \beta_4 \neq \beta_5$$

Los análisis se realizaron mediante el software estadístico InfoStat versión 2008 (Di Rienzo *et al.*, 2008).

7.4. Pilosidad

Para conocer si existen diferencias en el número de tricomas.cm⁻² en el haz respecto del envés dentro de cada cultivo (girasol, soja) se utilizó la Prueba T para muestras apareadas. Asimismo, se aplicó la Prueba T para muestras independientes con la finalidad de determinar si el cultivo condiciona el número de tricomas.cm⁻² presentes en las hojas. Ambas pruebas se realizaron mediante el software estadístico InfoStat versión 2008 (Di Rienzo *et al.*, 2008).

Para determinar si la proporción de tricomas difirió entre cultivos se efectuó una Prueba de Hipótesis para diferencias entre dos proporciones. Para ello se formularon las siguientes hipótesis nula y alternativa para las hojas de girasol y soja:

$$H_0: P_1=P_2$$

La proporción de tricomas en las hojas de girasol (P_1) es igual a la proporción de tricomas en los folíolos de soja (P_2).

$$H_1: P_1 \neq P_2$$

La proporción de tricomas en las hojas de girasol (P_1) no es igual a la proporción de tricomas en los folíolos de soja (P_2).

Z de prueba (Z_p) se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$Z_p = \frac{(p_1 - p_2) - (P_1 - P_2)}{\sqrt{\frac{p_1 q_1}{n_1} + \frac{p_2 q_2}{n_2}}}$$

donde:

p_1 y p_2 : proporción de tricomas en el haz o en el envés en girasol y en soja respectivamente (muestral), siendo:

$$p = \frac{N^\circ \text{ de tricomas en una determinada posición (haz o envés)}}{N^\circ \text{ total de tricomas (haz + envés)}}$$

P_1 y P_2 : proporción de tricomas en girasol y en soja respectivamente (poblacional)

$$q_1 = 1 - p_1$$

$$q_2 = 1 - p_2$$

n_1 : número total de tricomas en girasol (haz + envés)

n_2 : número total de tricomas en soja (haz + envés)

Se consideró un nivel de significación de $\alpha = 5\%$ y el valor crítico para la prueba de dos colas de 1,96.

RESULTADOS

1. Densidad de huevos de *R. nu* por unidad de área foliar

1.1. Ciclo Agrícola 2009

La densidad de huevos por unidad de área foliar (número de huevos.cm⁻²) varió de acuerdo al cultivo y al sistema de cultivo, aunque no se observó un patrón definido de fluctuación poblacional. Los rangos de densidad de huevos para girasol fueron de 0,03 a 0,14 huevos.cm⁻², mientras que para soja se registraron entre 0,01 y 0,08 huevos.cm⁻². Solamente a los 70 días posteriores a la siembra, el cultivo puro de soja presentó valores superiores de densidad de huevos en comparación con soja y girasol en intercultivo y cultivo puro de girasol. En las restantes fechas de muestreos el cultivo de girasol, ya sea puro o en intercultivo, exhibió densidades superiores (Figura 2.9.).

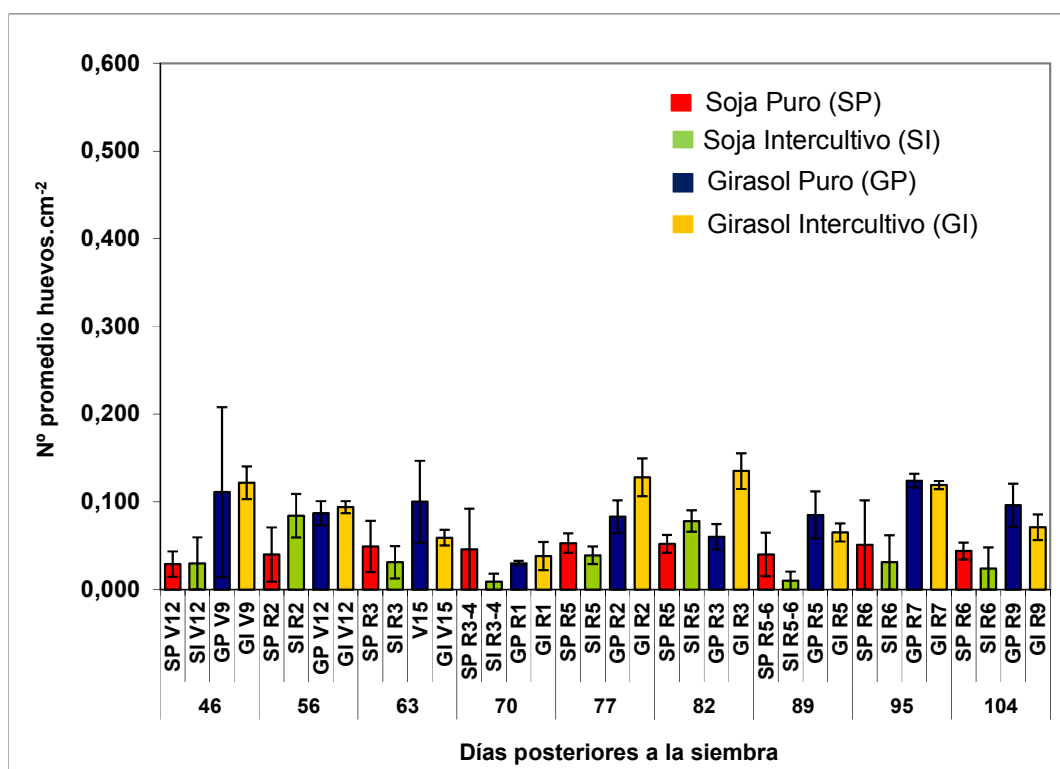


Figura 2.9. Densidad media de huevos (número de huevos.cm⁻²) (\pm E.E.) por cultivo y sistema de cultivo en los muestreos realizados durante el primer ciclo agrícola (2009). SP: Soja puro, SI: soja en intercultivo; GP: Girasol puro; GI: Girasol en intercultivo; V: estados vegetativos; R: estados reproductivos.

1.2. Ciclo Agrícola 2010

1.2.1. Primera fecha de siembra

En la primera fecha de siembra se registraron valores de abundancia de huevos de *R. nu* superiores a los del ciclo agrícola precedente. Independientemente del sistema de cultivo, las hojas de girasol presentaron entre 0,02 y 0,37 huevos.cm⁻². En soja, solo a los 31 días posteriores a la siembra, no se hallaron desoves y el valor máximo alcanzado fue de 0,18 huevos.cm⁻².

Como se observa en la Figura 2.10, los registros más elevados de desoves se concentraron a los 18 días posteriores a la siembra de ambos cultivos, en los estados fenológicos de V2 (planta con la primera hoja trifoliada totalmente desplegada, Fehr & Caviness, 1977) y V4 (4 hojas de más de 4 cm de largo, Schneiter & Miller, 1981) para soja y girasol, respectivamente. En las fechas posteriores, el número de huevos.cm⁻² fue variable y muy por debajo de los hallados en las primeras etapas de desarrollo de los cultivos.

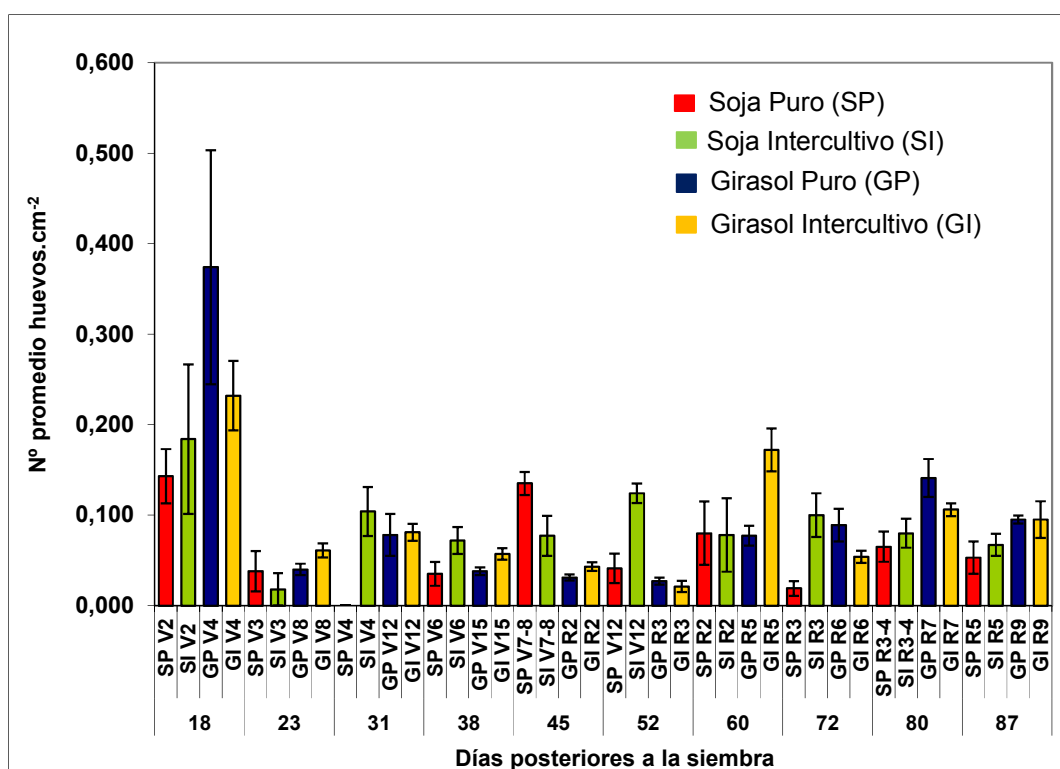


Figura 2.10. Densidad media de huevos (número de huevos.cm⁻²) (\pm E.E.) por cultivo y sistema de cultivo en los muestreos realizados durante el segundo ciclo agrícola (2010) y primera fecha de siembra. SP: Soja puro, SI: soja en intercultivo; GP: Girasol puro; GI: Girasol en intercultivo; V: estados vegetativos; R: estados reproductivos.

1.2.2. Segunda fecha de siembra

El número mínimo de huevos por área foliar fue el mismo para soja y girasol ($0,03 \text{ huevos.cm}^{-2}$), independientemente del sistema de cultivo. De modo similar a la primera fecha de siembra, la densidad más elevada de desoves ocurrió en etapas vegetativas de ambos cultivos (V5 y V10 para soja y girasol, respectivamente) (Figura 2.11.). Únicamente en este último ensayo, en todos los estados fenológicos en que se realizaron los muestreos, en las parcelas sembradas bajo el sistema de intercultivo, la densidad promedio de huevos por área foliar fue superior en soja que en girasol, con un valor máximo de $0,48 \text{ huevos.cm}^{-2}$ en soja en intercultivo. Esto puede estar relacionado con los estados fenológicos, siendo que la soja se encontraba en V5, con folíolos jóvenes y con menor contenido en fibras, mientras que el girasol transitaba por la fase de desarrollo V10.

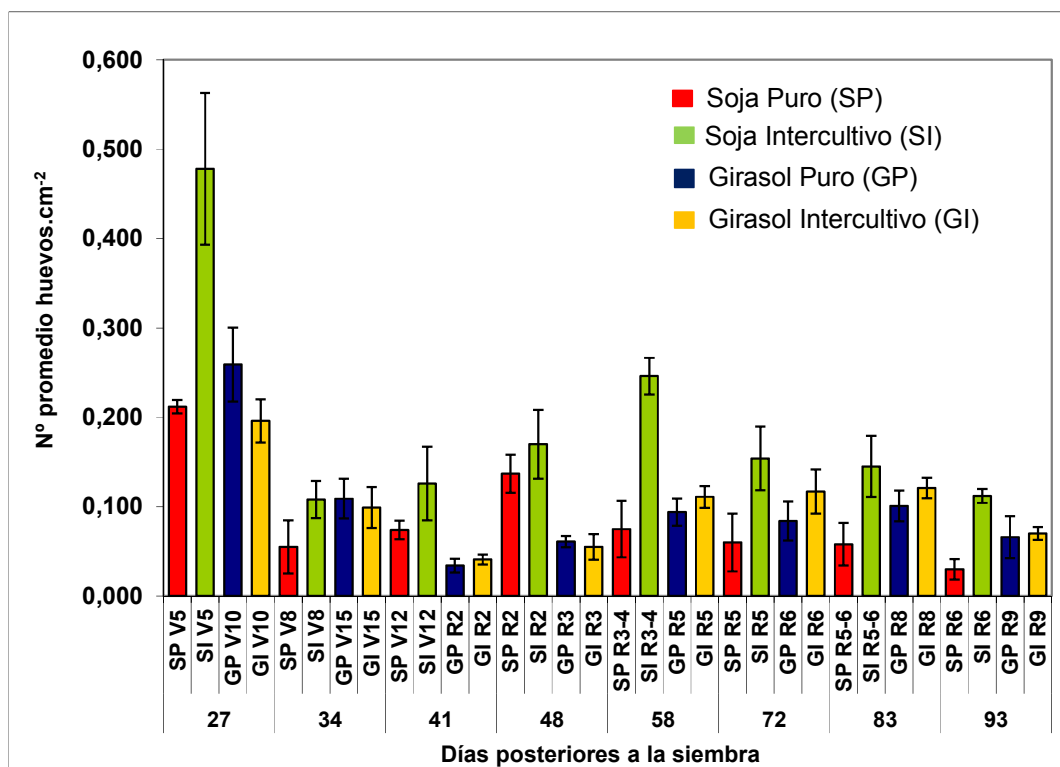


Figura 2.11. Densidad media de huevos (número de huevos. cm^{-2}) (\pm E.E.) por cultivo y sistema de cultivo en los muestreos realizados durante el segundo ciclo agrícola (2010) y segunda fecha de siembra. SP: Soja puro, SI: soja en intercultivo; GP: Girasol puro; GI: Girasol en intercultivo; V: estados vegetativos; R: estados reproductivos.

1.3. Análisis estadístico para las tres fechas de siembra

Al analizar estadísticamente los datos mediante el modelo lineal generalizado mixto (MLGM), incluyendo el número de huevos por unidad de área foliar de las 3 fechas de siembra se identificaron diferencias estadísticamente significativas entre las fechas de siembra de los 2 ciclos agrícolas (2009, 1^{ra} y 2^{da} fecha de siembra de 2010) (Tabla 2.2). En la Figura 2.12 se observan las tres curvas ajustadas por el MLGM que representan la fluctuación predicha en la densidad de huevos.cm⁻² en cada ciclo agrícola. Las mismas se construyeron en base a los valores estimados del efecto fijo del ciclo agrícola y de los términos lineal y cuadrático del modelo ajustado. Conforme al periodo relevado, los niveles de abundancia de posturas por área foliar fueron diferentes. En el 2009, la mayor cantidad de huevos se constató en el periodo reproductivo, mientras que en los ensayos de las dos fechas de siembra del ciclo agrícola 2010, los valores más elevados de densidad de huevos.cm⁻² se observaron en las etapas iniciales de los cultivos. De acuerdo a este análisis, la densidad de huevos decreció hasta los 67 días posteriores a la siembra, momento en que se registró el valor mínimo de huevos.cm⁻² (punto de inflexión de las curvas). A partir de allí se produjo un nuevo incremento, más acentuado en el ciclo agrícola 2009 y en la segunda fecha de siembra del 2010.

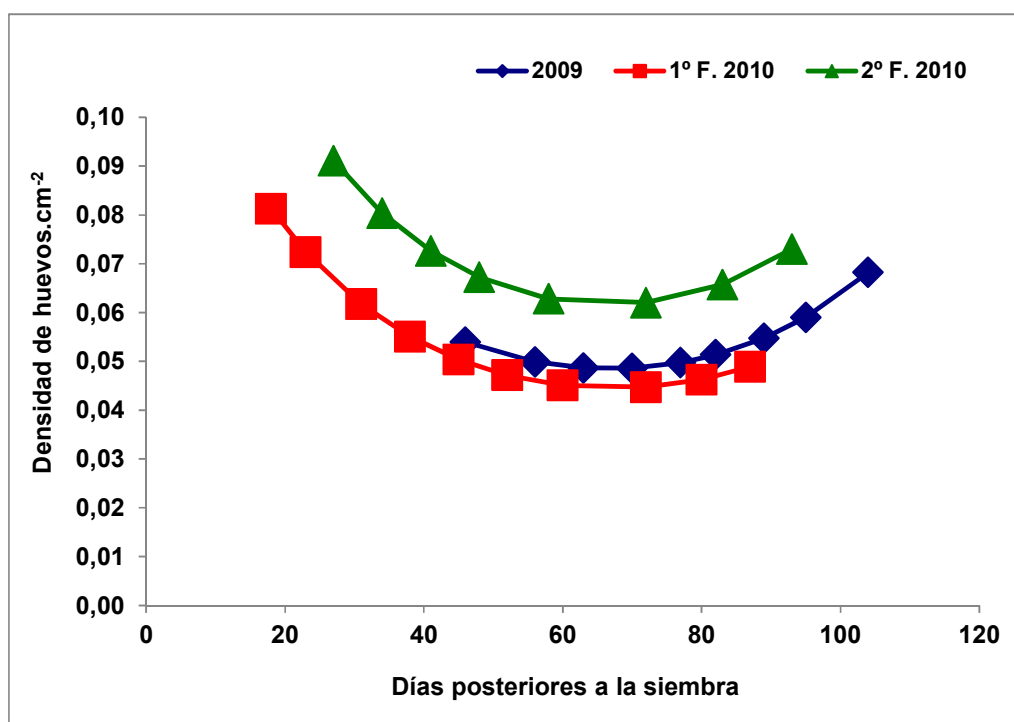


Figura 2.12. Fluctuación en la densidad de huevos de *R. nu.*cm⁻² para cada ciclo agrícola desde el primer muestreo hasta el último (9 en 2009, 10 en 1^{ra} fecha de siembra de 2010 y 8 en la 2^{da} fecha de siembra de 2010, detalle en Tabla 2.1.)

No se identificaron diferencias estadísticamente significativas entre los cultivos dentro de cada escenario, así como tampoco entre los escenarios (puro e intercultivo) dentro de cada ciclo agrícola (Tabla 2.2.).

Tabla 2.2. Estadístico de prueba (χ^2) y valor de p asociado para cada efecto fijo considerado en el modelo lineal generalizado mixto.

Efecto Fijo	G.L	χ^2	Valor de p
Ciclo	2	11,562	0,004
Escenario (ciclo)	2	1,931	0,386
Cultivo (escenario)	2	4,903	0,092
Días	1	6,030	0,016
Días ²	1	4,742	0,032

Al descomponer el efecto de cada variable fija incluida en el modelo, en algunos casos se obtuvieron diferencias significativas y en otros no. Así, cuando se analizó el efecto del cultivo (girasol y soja) dentro de cada escenario (puro e intercultivo), se registró un incremento positivo en el número de huevos.cm⁻² en cultivo puro de girasol en relación al cultivo puro de soja, con diferencias estadísticamente significativas entre cultivos puros (t=2,221; p=0,029). En tanto, en intercultivo las diferencias entre ambos cultivos no fueron estadísticamente significativas (t=0,021; p=0,985).

En lo referido al escenario dentro de cada ciclo agrícola, en 2009 no hubo diferencias estadísticas entre cultivos puros e intercultivo (t=0,731; p=0,464). En la primera fecha de siembra del ciclo 2010, se identificó una diferencia marginal (t=1,931; p=0,057) en la densidad de huevos.cm⁻² en intercultivo de girasol x soja. En la segunda fecha de siembra de 2010, las diferencias fueron significativas con un incremento positivo en el recuento de huevos en intercultivo por sobre los cultivos puros (t=2,662; p=0,009). En ambas fechas de siembra del ciclo agrícola 2010, la mayor densidad de huevos hallada en intercultivo ocurrió como consecuencia del incremento en el número de desoves en el cultivo de soja asociado al girasol. En intercultivo, la soja presentó entre 33 y 54% más de desoves.cm⁻² que en cultivo puro (Figura 2.13.).

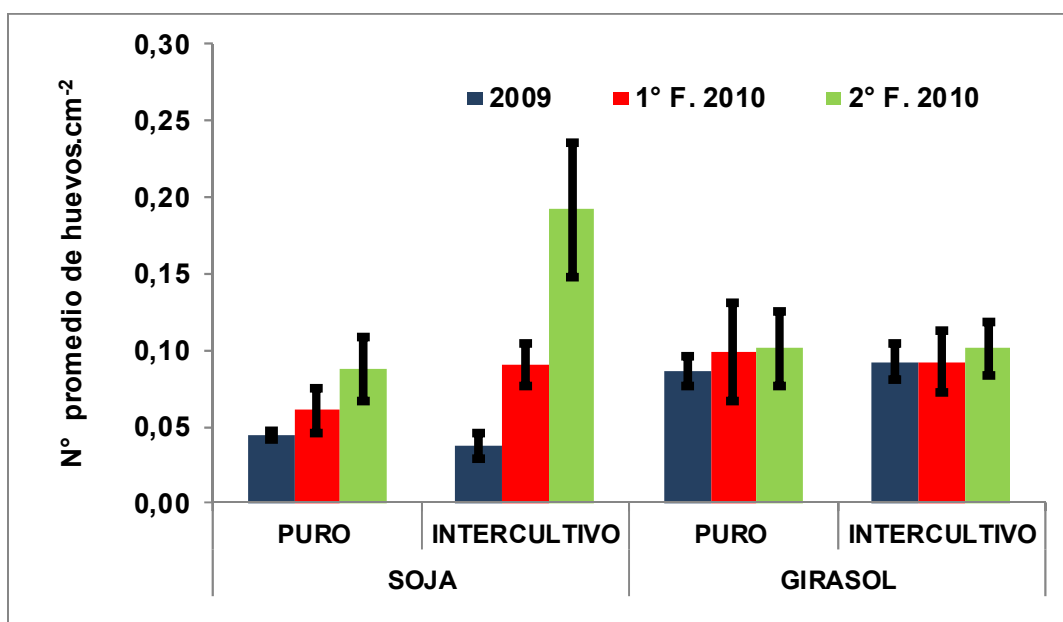


Figura 2.13. Densidad media de huevos.cm⁻² (\pm E.E.) en cultivos puros de girasol y soja y en intercultivo girasol x soja, en las 3 fechas de siembra.

2. Ubicación de los huevos en la hoja

En girasol y en soja, los huevos de *R. nu* se ubicaron predominantemente en la cara inferior de la hoja (Figura 2.14.).

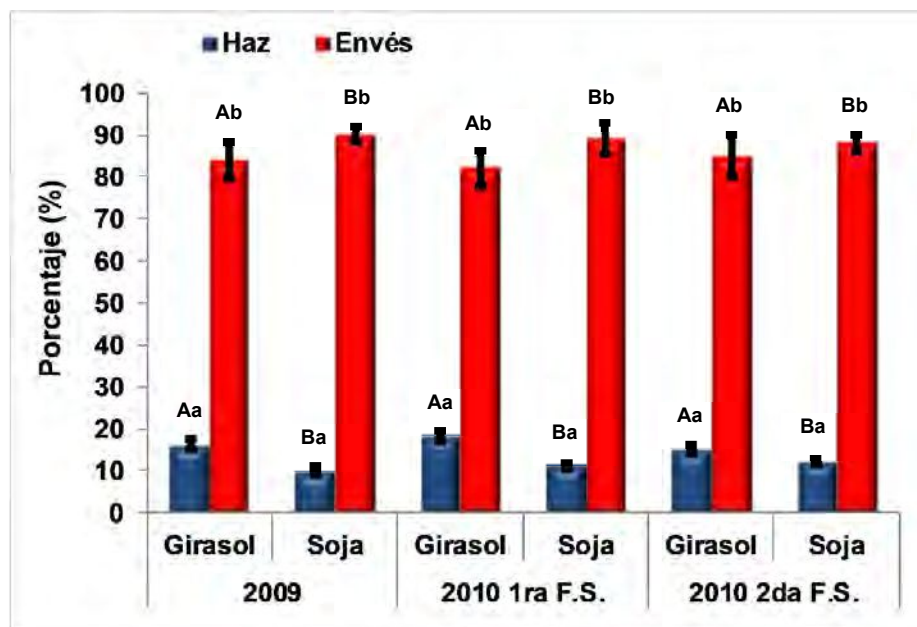


Figura 2.14. Cantidad de huevos de *R. nu* (%) (\pm E.E.) en haz y envés de las hojas de girasol y folíolos de soja en cada uno de los ciclos agrícolas: 2009, 1^{ra} y 2^{da} de 2010. Fecha de Siembra (F.S.). Letras mayúsculas corresponden al cultivo (girasol, soja) y letras minúsculas a la posición (haz, envés). Letras distintas (mayúsculas y minúsculas) indican diferencias significativas $\alpha=0.05$.

El porcentaje promedio de huevos en el haz de las hojas de girasol y soja fueron 16 y 11%, respectivamente, mientras que en el envés dicho porcentaje fue de 84% para girasol y 89% para soja.

Los modelos de regresión de Poisson ajustados para el ciclo agrícola 2009 y para las dos fechas de siembra de 2010 (FS1 y FS2) se presentan en la tabla 2.3.

Tabla 2.3. Modelos de regresión de Poisson para los efectos cultivo (girasol, soja), posición (haz, envés) y sección (I, II, III, IV) en el número de huevos/1000 hojas ajustados para cada fecha de siembra.

		a	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅
2009		-0,33	3,26	1,70	-0,82	-0,77	-0,11
2010	FS1	0,48	2,35	1,53	-0,69	-0,60	0,13
	FS2	1,04	2,07	1,78	-1,02	-0,79	-0,16

FS1: 1^{ra} fecha de siembra; FS2: 2^{da} fecha de siembra; X₁ a X₅ variables auxiliares.

De acuerdo al análisis de regresión de Poisson, el efecto del cultivo (girasol, soja), la posición (haz, envés) y la sección (I, II, III, IV), en el número de huevos/1000 hojas fue estadísticamente significativo en los tres ciclos evaluados (Tabla 2.4.).

Tabla 2.4. Prueba de hipótesis secuenciales para los efectos cultivo (girasol, soja), posición (haz, envés) y sección (I, II, III, IV) en el número de huevos/1000 hojas.

	Efecto	GL	$-2[L_0-L_1]$	Valor de p
Ciclo 2009	Cultivo	1	374,074	<0,001
	Posición	1	184,153	<0,001
	Sección	3	45,693	<0,001
Ciclo 2010 FS1	Cultivo	1	263,465	<0,001
	Posición	1	149,561	<0,001
	Sección	3	41,192	<0,001
Ciclo 2010 FS2	Cultivo	1	317,680	<0,001
	Posición	1	260,102	<0,001
	Sección	3	75,602	<0,001

FS1: 1^{ra} fecha de siembra; FS2: 2^{da} fecha de siembra.

$-2[L_0-L_1]$: -2 veces la diferencia de los logaritmos de la verosimilitud entre el modelo reducido (L_0) y el modelo completo (L_1).

En referencia al número de huevos/1000 hojas observados en las diferentes secciones de las hojas de girasol y soja, se determinó, a partir del ajuste del modelo de regresión de Poisson para cada ciclo agrícola, que la sección IV fue equivalente a la sección III, mientras que difirió de la sección I y II (Tabla 2.5.).

Tabla 2.5. Estadístico de prueba χ^2 y valor de p asociado para los parámetros β_3 (sección I), β_4 (sección II) y β_5 (sección III) de acuerdo al modelo de regresión de Poisson para cada fecha de siembra.

	Parámetros	χ^2 (Wald)	Valor de p
Ciclo 2009	β_3	25,743	<0,001
	β_4	23,359	<0,001
	β_5	0,712	0,399
Ciclo 2010 FS1	β_3	16,656	<0,001
	β_4	13,314	<0,001
	β_5	1,007	0,315
Ciclo 2010 FS2	β_3	47,738	<0,001
	β_4	33,875	<0,001
	β_5	2,095	0,148

FS1: 1^{ra} fecha de siembra; FS2: 2^{da} fecha de siembra.

Al realizar los contrastes se verificó que las secciones I y II de las hojas de girasol y soja fueron equivalentes entre sí y diferentes de las secciones III y IV, situación que se constató en los tres ciclos agrícolas en los que se efectuaron los muestreos (Tabla 2.6.). La hembra de *R. nu* prefirió desovar en las secciones III y IV de las hojas de ambos cultivos. En girasol y en soja se hallaron, en promedio, un 54% y 29% más de desoves, respectivamente, en las secciones III y IV en comparación con las secciones I y II.

Tabla 2.6. Contraste de hipótesis entre los parámetros β_3 (sección I), β_4 (sección II) y β_5 (sección III) de acuerdo al modelo de regresión de Poisson para cada fecha de siembra.

	Contrastes	G.L.	χ^2	Valor de p
Ciclo 2009	1	1	0,080	>0,999
	2	1	18,655	<0,001
	3	1	16,551	<0,001
Ciclo 2010 FS1	1	1	0,232	>0,999
	2	1	24,801	<0,001
	3	1	20,875	<0,001
Ciclo 2010 FS2	1	1	1,795	0,541
	2	1	32,234	<0,001
	3	1	20,298	<0,001

FS1: 1^{ra} fecha de siembra; FS2: 2^{da} fecha de siembra.

3. Pilosidad

En girasol existieron diferencias estadísticamente significativas en el número de tricomas.cm⁻² en el haz respecto del envés (t=-16,573; p<0,001). Igual situación se presentó en soja cuando se analizó la densidad de pelos.cm⁻² en ambas láminas foliares (t=-27,612; p<0,001) (Figura 2.15). En el haz de las hojas de girasol se registró un 13% menos de pelos.cm⁻² que en el envés, mientras que en soja, esta diferencia fue más acentuada, registrándose 41% más tricomas.cm⁻² en el envés en relación al haz.

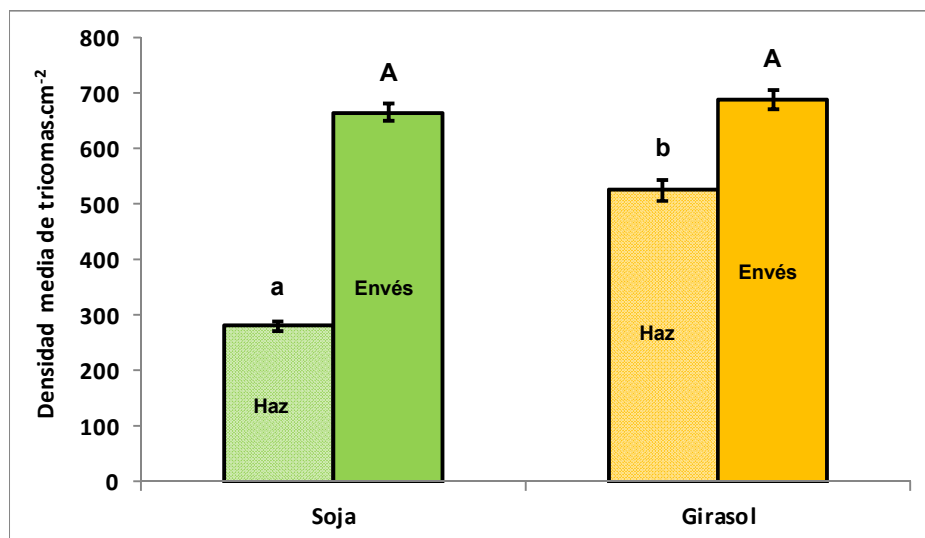


Figura 2.15. Densidad media de tricomas.cm⁻² (\pm E.E.) en haz y envés en folíolos de soja y hojas de girasol. Letras minúsculas corresponden al haz y letras mayúsculas al envés de folíolos de soja y hojas de girasol. Letras distintas (mayúsculas y minúsculas) indican diferencias significativas $\alpha=0.05$.

Los niveles de densidad de pelos en el envés de las hojas de ambos cultivos fueron los mismos ($p=0,346$). En contraposición a ello, la densidad de tricomas.cm⁻² en el haz fue estadísticamente diferente ($p<0,001$) (Tabla 2.7.).

Tabla 2.7. Prueba T para la densidad media de tricomas.cm⁻² en haz y envés de las hojas de girasol y folíolos de soja.

Superficie foliar	N	Cultivo		T	Valor de P
		Girasol	Soja		
Haz	105	526,0	281,1	12,123	<0,001
Envés	105	688,9	666,2	0,945	0,346

La proporción de tricomas en el haz de las hojas de girasol fue diferente a la proporción de tricomas en el haz de los folíolos de soja ya que el valor de Z del test fue mayor que el valor crítico Z ($Z_p: 31,24 > Z_c: 1,96$), con un nivel de confianza del 95%. La misma situación se presentó en el envés de las hojas de ambos cultivos ($Z_p: 31,20 > Z_c: 1,96$).

DISCUSIÓN

La densidad de huevos de *Rachiplusia nu* por unidad de área foliar fue estadísticamente diferente entre los periodos analizados, independientemente del sistema de cultivo (intercultivo, cultivo puro). Los niveles de abundancia de los desoves en el cultivo de soja se incrementaron desde el primer ciclo agrícola en 2009, con valores máximos de 0,08 huevos.cm⁻², a la última fecha de siembra en 2010, cuando se registraron hasta 0,48 huevos.cm⁻². Por el contrario, en el cultivo de girasol la mayor densidad de desoves se observó en la primera fecha de siembra del segundo ciclo agrícola, con un valor máximo de 0,37 huevos.cm⁻², un 30% más que en la última fecha de siembra de 2010. Esto coincide con los resultados hallados en otras investigaciones en las que se presentaron diferencias en la abundancia de huevos de Plusiinae a través de sucesivos ciclos agrícolas (Pansera de Araújo *et al.*, 1999; Valverde, 2007).

En las dos fechas de siembra del ciclo agrícola 2010, las densidades de huevos fueron superiores en las primeras etapas de desarrollo vegetativo tanto del girasol como de la soja, independientemente del sistema de cultivo. En el ensayo conducido en 2009, no se pudieron detectar estas diferencias en la densidad de huevos entre las fases de desarrollo de los cultivos ya que en el caso de la soja, por las razones mencionadas, solamente se muestrearon folíolos en un único estado vegetativo (V12). El estado fenológico de los cultivos constituye un factor importante debido a que afecta la oviposición y la supervivencia de algunas especies de lepidópteros. Determinadas fases del desarrollo de las plantas resultan más atractivas para el desove de los lepidópteros o bien son más adecuadas para el establecimiento y el crecimiento larval (Terry *et al.*, 1987; Lazaro *et al.*, 1990, Murúa *et al.*, 2009). En el ciclo agrícola 2010, se encontró que la mayor densidad de huevos por unidad de área foliar de soja ocurrió cuando el cultivo presentó entre una y cuatro hojas trifoliadas, totalmente desplegadas, en la primera y segunda fecha de siembra, respectivamente. Estos resultados son similares a los hallados por Pansera de Araújo *et al.* (1999), quienes observaron que la frecuencia de huevos presentes en las plantas de soja fue superior en los estados vegetativos, cuando estudiaron el comportamiento de oviposición de cuatro especies de Noctuidae, entre las que se incluía a *R. nu*. Asimismo, Valverde (2007) encontró que los huevos de Plusiinae fueron más abundantes en la primera etapa del cultivo de soja y a partir de allí disminuyeron, en concordancia con el aumento de huevos de *A. gemmatilis*. En girasol, también la abundancia más elevada de desoves se observó en los estados vegetativos, no obstante, a partir del momento de la antesis de las flores tubuladas (R5, Escala de

Schneider & Miller, 1981), se produjo un aumento en la densidad de huevos coincidiendo con la presencia de adultos de *R. nu* libando néctar y polen de las flores ubicadas en los capítulos. En este estado de desarrollo los capítulos de girasol son altamente atractivos debido a la presencia de las flores liguladas, que son amarillas y llamativas, y a la apertura de las flores tubuladas (entre 700 y 3000) que facilitan la polinización entomófila (Vitti *et al.*, 2008).

En ambas fechas del segundo ciclo agrícola, hubo una mayor densidad de huevos en intercultivo girasol-soja, en comparación con los cultivos puros, con diferencia significativa en la última fecha de siembra. Este sistema de cultivo, que combina dos especies hospedantes, favoreció la oviposición de las hembras de *R. nu*, por lo que no sería una estrategia adecuada para reducir la incidencia de la plaga. Muchos estudios en producciones agrícolas documentaron la reducción en el número de herbívoros en respuesta al incremento en la diversidad vegetal (p. ej. Holmes & Barrett, 1997), sin embargo, una elevada diversidad vegetal no siempre implica una menor herbivoría (White & Whitham, 2000).

La mayor densidad de huevos de *R. nu* en intercultivo podría explicarse mediante la hipótesis de “susceptibilidad asociacional” (SA) o de “susceptibilidad por asociación” (Holmes & Barrett, 1997; Hambäck *et al.*, 2014). Desde la perspectiva fitocéntrica, esta hipótesis que se contrapone con la de resistencia asociacional (RA) (Barbosa *et al.*, 2009), postula que en sistemas diversos (p. ej. intercultivo) las plantas pueden ser más dañadas por los herbívoros que en sistemas monoespecíficos (Brown & Ewel, 1987). En producciones agrícolas y forestales existen antecedentes en los que la asociación de dos especies favoreció el incremento de la herbivoría (Letourneau, 1995; White & Whitham, 2000; Plath *et al.*, 2012).

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tesis, la SA podría atribuirse a las siguientes causas (I) *R. nu* es un herbívoro generalista (Griot, 1944; Salto, 1979; Pereyra, 1995; Luna & Greco, 1998; Igarzábal *et al.*, 2011). Jactel & Brouckhoff (2007) manifestaron que la SA se produce cuando la plaga insectil es generalista, ya que se beneficia al disponer de hospedantes alternativos en sistemas heteroespecíficos (Unsicker *et al.* 2008). Bernays (2001) argumentó que los insectos generalistas se encuentran en una posición desventajosa con respecto a los especialistas ya que estos últimos deciden en base a un número menor de opciones. Los generalistas son menos eficientes en la selección del hospedante adecuado como consecuencia de sus limitaciones neuronales, porque su sistema nervioso no está capacitado para recibir una multiplicidad de alternativas posibles. (II) La SA ocurre como resultado de una respuesta diferencial de las plantas que integran la asociación a factores bióticos y/o abióticos. Los primeros se relacionan con señales visuales (p.

ej. coloración de las hojas) o químicas (volátiles) que actúan como atrayentes de los herbívoros (Holmes & Barret, 1997). En referencia a los factores abióticos, alteraciones en el microclima (p. ej. intensidad lumínica, temperatura y humedad) podrían influir en la colonización y en la herbivoría mediante cambios en la oviposición y en la supervivencia e indirectamente, en la capacidad de los enemigos naturales de buscar y encontrar a sus hospedadores (Barbosa *et al.* 2009). La proximidad espacial (surcos distanciados a 0,52 cm) y las características propias del híbrido de girasol seleccionado, dio lugar a un cierto solapamiento de las canopias de los cultivos, el que se acentuó en los estados reproductivos avanzados, como consecuencia del tamaño y del peso de los capítulos. Esta situación podría originar un microclima particular, diferente al que se presentaría en cultivos puros. Ampong-Nyarko *et al.* (1995) manifiestan que cuando tiene lugar tal solapamiento en sistemas de cultivos múltiples, las hembras, especialmente de los lepidópteros que desovan en la superficie de las hojas, pueden depositar los huevos en ambas especies que integran la asociación, principalmente cuando éstas presentan coloración verde (Prokopy *et al.*, 1983; Kostal & Finch, 1994; Finch & Kienegger, 1997). (III) La SA se vincula estrechamente con la densidad del herbívoro. A bajas densidades, los herbívoros agudizan su capacidad selectiva, eligiendo el hospedante que le garantiza el óptimo desarrollo de su progenie (White & Whitham, 2000). Únicamente en la campaña agrícola 2009, en el sistema de intercultivo, las hembras de *R. nu* seleccionaron las hojas de girasol como sitio de desove, ya que la densidad de huevos en ellas fue un 50% superior que en los folíolos del cultivo asociado. La población de adultos capturados en trampa de luz en 2009 fue 3 veces inferior a la registrada en las dos fechas de 2010 (Saluso, 2009, 2010). En estos últimos casos, la mayor abundancia de mariposas pudo haber condicionado la habilidad de la hembra para elegir el sustrato de oviposición, colocando los huevos sin discriminar entre hospedantes. (IV) La SA podría tener lugar cuando las dos especies vegetales que integran la asociación son hospedantes de un determinado herbívoro (Mousavi & Eskandari, 2011). Los estudios sobre el efecto de los cultivos múltiples en la selección del sitio de oviposición de insectos perjudiciales incluyen fundamentalmente combinaciones de cultivos hospedantes y no hospedantes (Ampong-Nyarko *et al.*, 1994; Schulthess *et al.*, 2004; Åsman & Ekbom, 2006; Björkman, 2007), siendo prácticamente nula la información acerca de combinaciones que involucren dos especies hospedantes. Debido a ello, la presente tesis aporta los primeros resultados en referencia a esta temática.

Cuando se incluyó en el análisis estadístico las tres fechas de siembra en dos ciclos agrícolas, la densidad de huevos de *R. nu* no fue afectada por el sustrato de oviposición (girasol y soja) dentro de cada sistema de cultivo (cultivos puros versus

intercultivos) como así tampoco por el sistema de cultivo dentro de cada fecha de siembra.

En términos de preferencia del sitio de oviposición, los resultados del presente capítulo no avalan las hipótesis planteadas, ya que las hembras de *R. nu* no evidenciaron un comportamiento de mayor desove sobre girasol que en soja cuando ambos cultivos coexistieron en la misma estación de crecimiento y en la misma superficie.

Si bien el establecimiento de cultivos múltiples constituye una práctica recomendable en el marco de la filosofía del Manejo Integrado de Plagas (Chinsembu, 2012), la disminución en la incidencia de insectos fitófagos, no ocurre en todas las interacciones herbívoro-hospedante investigadas (Risch *et al.*, 1983; Capinera *et al.*, 1985; Jackai & Adalla, 1997; Päts *et al.*, 1997; Songa *et al.*, 2007; Oso & Falade, 2010). Puede ocurrir, inclusive, que una misma asociación de cultivos reduzca el impacto de una plaga (o de un gremio) y favorezca el incremento poblacional de otra (Bender *et al.*, 1999; Gianoli *et al.*, 2006). Por lo expuesto, el escenario estudiado en esta tesis, configurado por el tipo de cultivo múltiple (intercultivo en surcos), la combinación de cultivos seleccionados (girasol y soja) y el arreglo espacial (1 surco de girasol x 2 surcos de soja), no constituirían la estrategia más adecuada para interferir en el comportamiento de oviposición de las hembras de *R. nu*. Para cumplir con este objetivo se deberían considerar los siguientes aspectos. (I) Combinaciones apropiadas de cultivos. Por ejemplo, se ha demostrado que de acuerdo a la especie de leguminosa que se siembre en intercultivo con maíz, la reducción en la densidad de desoves por espiga de un insecto barrenador (Lepidoptera: Pyralidae), sería del orden del 25 al 87%, en comparación con monocultivo de maíz (Agboka *et al.*, 2006). En el caso de *R. nu* sería relevante conocer el impacto de la asociación de especies hospedantes y no hospedantes. Una posibilidad sería combinar soja o girasol con maíz o con sorgo como cultivo acompañante, puesto que existen estudios que señalan la factibilidad productiva de realizar este tipo de asociaciones (p. ej. Saberi, 2018; Yuwariah *et al.*, 2018). Maíz o sorgo actuarían como barreras físicas (Litsinger & Moody, 1976), evitando que la hembra visualice la planta hospedante (Bapatla *et al.*, 2018). Además, resultaría interesante determinar si alguna de estas gramíneas es más eficiente en la reducción de la oviposición. (II) Ajustes en la proporción de cultivos hospedantes y no hospedantes. Degri *et al.* (2014) determinaron una disminución del 35% en el número de plantas de mijo infestadas por especies barrenadoras del tallo (Lepidoptera: Noctuidae, Pyralidae) cuando los dos tercios de la combinación de cultivos correspondió a plantas no hospedantes (*Arachis hypogaea* L., Fabaceae). En este caso, la tasa de oviposición de las hembras fue considerablemente reducida

como consecuencia de la dificultad en encontrar su hospedante. En asociaciones con igual o mayor proporción de cultivos hospedantes en relación a los no hospedantes, el número de plantas infestadas fue un 67% superior en comparación con la combinación descripta anteriormente.

Los huevos de *R. nu* se ubicaron principalmente en el envés de la superficie foliar tanto en girasol como en soja, durante todo el ciclo fenológico de los cultivos. Este comportamiento selectivo es característico de los lepidópteros noctuidos (Pansera de Araújo *et al.*, 1999). Los porcentajes de huevos hallados en el envés de los folíolos de soja de cuatro especies de lepidópteros *A. gemmatilis*, *R. nu*, *C. includens* y *Spodoptera latifascia* Walker (Lepidoptera: Noctuidae) se encuentran en un rango comprendido entre 69 y 80% (Pansera de Araújo *et al.*, 1999; Jost & Pitre, 2002; Valverde, 2007). En la presente tesis, los porcentajes de desoves de *R. nu* en el envés de las hojas fueron siempre superiores al 80%, sugiriendo que la preferencia de esta especie por dicha superficie foliar es más acentuada que en las especies mencionadas. En lo que respecta a la ubicación de los huevos en las hojas de girasol también la bibliografía menciona su preferencia por el envés (Iannone & Leiva, 1994; Vitti *et al.*, 2008). Asimismo, se observó que las hembras de *R. nu* preferían desovar en las secciones III y IV de las hojas de ambos cultivos, en la región próxima a los pecíolos. Esta ubicación preferencial podría facilitar el desplazamiento de la larva, una vez emergida del corion, hacia otros sitios de la planta.

Atributos morfológicos y fisiológicos de las plantas interfieren con los mecanismos de selección del hospedante, la alimentación, la ingestión, la digestión, la reproducción y la oviposición del insecto plaga (Norris & Kogan, 1980). Dentro de los primeros, los tricomas constituyen una de las estructuras más importantes de la resistencia de las plantas a los insectos y a otros herbívoros (Khan *et al.*, 1986). En numerosas especies de plantas se ha establecido una correlación entre la densidad de tricomas de las hojas y la oviposición y alimentación de insectos fitófagos (p. ej. Bhattacharyya & Ram, 2001; Oriani & Vendramim, 2010; Permana *et al.*, 2012; Tian *et al.*, 2012; Moghadam *et al.*, 2013). Por ejemplo, en el envés de las hojas glabras de híbridos de maíz se determinó más cantidad de masas de huevos y huevos por planta de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Pyralidae) que en la lámina superior, con elevada pilosidad (mayor a 107 tricomas.cm⁻²) (Greco *et al.*, 1998). Estos autores sugirieron que la pubescencia en el haz de las hojas actuaría como barrera física afectando la preferencia y el comportamiento de búsqueda de las hembras, forzándolas a elegir como sitio de oviposición el envés de las hojas de maíz (Greco *et al.*, 1998).

En la presente tesis se encontró que la densidad de tricomas fue superior en el envés de las hojas de ambos cultivos. Estos resultados se corresponden con los mayores niveles de densidad de huevos.cm⁻² registrados en dicha superficie foliar, lo que evidenció un comportamiento preferencial de las hembras de *R. nu* por colocar sus huevos en sitios con mayor pilosidad. Los antecedentes sobre el efecto de la pubescencia en la preferencia de oviposición de las principales especies de orugas defoliadoras en el cultivo de soja son muy escasos (Lambert *et al.*, 1992) y además se basan en comparaciones entre líneas isogénicas con diferente grado de pilosidad (densa, normal y glabra) (Lambert *et al.*, 1992; Tillman & Lambert, 1995). No obstante ello, cabe resaltar que los adultos de muchos insectos lepidópteros prefieren oviponer en hojas con pubescencia normal o densa por sobre las hojas glabras. En este sentido, Lambert *et al.* (1992) encontraron que las hembras de *C. includens*, especie estrechamente emparentada con *R. nu*, depositaron 20, 29 y 51% del total de huevos en las isolíneas glabra, normal y densa, respectivamente. Estos autores concluyeron que hubo una reducción significativa en el número de huevos depositados en el envés de las hojas de isolíneas glabras de la variedad Tracy-M. La mencionada preferencia de *R. nu* por desovar en superficies con pilosidad densa coincidió con los resultados arribados en dicho trabajo.

Los tricomas glandulares de la soja secretan un líquido viscoso que se endurece rápidamente cuando entra en contacto con el aire, actuando como un pegamento. Los herbívoros utilizan este líquido para evitar que sus huevos sean afectados por los enemigos naturales (Shanower *et al.*, 1996). Además, los huevos de los lepidópteros son menos susceptibles a ser atacados por sus parasitoides y predadores cuando son depositados en la base de los tricomas, ya que la eficiencia de búsqueda disminuye con el aumento de la densidad de estos últimos (Dent, 2000; Schoonhoven *et al.*, 2005). En el caso de *R. nu*, los parasitoides oófagos representan un factor de mortalidad muy importante (Valverde & Virla, 2007; Valverde *et al.*, 2014), los que podrían verse afectados en hojas con pilosidad densa (Li *et al.*, 1987; Butter & Vir, 1989; Shah *et al.*, 2015).

En girasol, especialmente en genotipos silvestres, el efecto de la pilosidad de la hoja sobre los insectos plaga se vincula a la presencia de exudados tóxicos como las lactonas sesquiterpénicas que son producidas por los tricomas glandulares capitados (Charlet *et al.*, 2008). Estos compuestos interferirían en la alimentación de las larvas de *Homoiesoma electellum* (Hulst) (Lepidoptera: Pyralidae), plaga primaria del girasol en Estados Unidos, causando mortalidad larval y retraso en el desarrollo (Rogers *et al.*, 1987). Investigaciones recientes demostraron, mediante evaluaciones de varios tipos de germoplasmas, que los tricomas glandulares capitados también son

abundantes en girasoles cultivados, aunque éstos pelos presentan diferentes concentraciones de lactonas sesquiterpénicas, por lo que una gran abundancia de ellos no necesariamente implica una mayor resistencia a los insectos (Prasifka, 2014). En investigaciones futuras sería interesante determinar la cantidad de lactonas sesquiterpénicas producidas por este tipo de tricomas, presentes en las hojas de los híbridos de girasol que actualmente se comercializan en Argentina y su efecto (tóxico y/o pegajoso) en el comportamiento de desove de las hembras de *R. nu*.

Finalmente, en base a los antecedentes y a los resultados obtenidos en este capítulo, en un sistema de intercultivo sería oportuno incluir especies hospedantes que presenten escasa pubescencia en sus hojas por dos razones: (I) para disminuir la oviposición de las hembras de *R. nu* y la consecuente emergencia de las larvas que son las responsables de causar daño al alimentarse de los tejidos foliares (defensas directas) y (II) para facilitar el movimiento de los enemigos naturales, incrementar la tasa de encuentro con su presa/hospedador y disminuir la mortalidad, especialmente si son pequeños (defensas indirectas).

CAPÍTULO III



Preferencia de oviposición y desempeño de larvas de *Rachiplusia nu* alimentadas con hojas de girasol y soja en condiciones semicontroladas

CAPÍTULO III

Preferencia de oviposición y desempeño de larvas de *Rachiplusia nu* alimentadas con hojas de girasol y soja en condiciones semicontroladas

INTRODUCCIÓN

La mayoría de los lepidópteros son fitófagos y para el desarrollo larval dependen de un rango limitado de especies vegetales, comprendidas en una o pocas familias botánicas, probablemente debido a que los insectos tienen una capacidad limitada (especie-específica) para manipular los aleloquímicos presentes en las plantas (Schoonhoven *et al.*, 2005). El rango de hospedantes de un insecto se encuentra bajo el control de dos aspectos de comportamiento distintivos: la preferencia de oviposición de la hembra y la selección del alimento de la progenie (Azerefegne & Solbreck, 2010). El primero de ellos es particularmente crucial para la supervivencia de la descendencia, ya que los adultos presentan una mayor habilidad locomotora que las larvas y la selección que realice la hembra determinará finalmente el rango de hospedantes de la descendencia (Honda, 1995). Sin embargo, si bien las larvas neonatas tienen un tamaño corporal pequeño y consecuentemente poseen reservas energéticas limitadas, en algunos casos, son capaces de dejar la planta sobre la que nacieron, si la misma resulta inadecuada para su crecimiento (Schoonhoven *et al.*, 2005).

La selección de la planta hospedante por parte de las hembras adultas es un proceso complejo que involucra muchos factores que pueden impactar en la eficacia biológica de la progenie (Shikano, 2009). La misma comprende una serie de eventos que son utilizados para la búsqueda y aceptación o rechazo de la planta hospedante (Finch & Collier, 2000). La secuencia de pasos que tiene lugar durante la búsqueda del hospedante difiere entre especies de insectos y depende de las señales que derivan de las potenciales fuentes de alimento disponibles en el ambiente. Dicha búsqueda puede ser aleatoria o fuertemente direccionada (Schoonhoven *et al.*, 2005). Ciertas larvas polífagas de la Familia Arctiidae (Dethier, 1989), estados inmaduros y maduros de langostas (Orthoptera: Acrididae) (Aikman & Hewitt, 1972) y adultos del escarabajo

colorado de la papa *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) (Jermy *et al.*, 1988) presentan comportamiento de búsqueda aleatoria. La generación de movimientos aleatorios puede explicarse por el funcionamiento de los llamados *programas del motor central* localizados en el sistema nervioso central (Visser, 1988). Cuando un insecto necesita buscar alimento, por ejemplo porque el nivel de trehalosa en la hemolinfa se encuentra por debajo de un valor crítico, dichos programas se activan y como consecuencia de ello el insecto comienza a caminar aleatoriamente. Este tipo de búsqueda tiene lugar cuando el ambiente no provee de señales direccionadas o bien cuando la capacidad sensorial del insecto es insuficiente para captar el estímulo necesario (Schoonhoven *et al.*, 2005). Los movimientos no direccionados ocurren hasta que se establece el primer contacto visual con los estímulos del hospedante, luego del cual se inician los movimientos más precisos y orientados en dirección al alimento. En esta etapa, las moléculas provenientes del hospedante están dispersas en el aire en forma de plumas de olor y una vez en contacto con las sensilas de las antenas, son absorbidas y acopladas a receptores neurosensoriales específicos (Bento & Nardi, 2009). La búsqueda direccionada ocurre cuando el hospedante emite señales que son percibidas por el sistema sensorial del insecto. El movimiento direccionado del insecto como respuesta a la percepción de un estímulo se denomina taxismo, el que puede ser positivo (hacia un estímulo) o negativo (en sentido opuesto al estímulo). La orientación hacia señales visuales o químicas o la combinación de ambas es común en los insectos herbívoros independientemente de la amplitud de la dieta (Schoonhoven *et al.*, 2005). Por ejemplo dentro de Lepidoptera existen especies monófagas (Tingle *et al.*, 1989), oligófagas (Palaniswamy *et al.*, 1986) y polífagas (Landolt, 1989) que responden a compuestos volátiles provenientes de las hojas de sus hospedantes, direccionando sus movimientos hacia dichas señales químicas (Schoonhoven *et al.*, 2005).

La aceptación es una decisión fundamental para el herbívoro ya que determina que desove o se alimente de la planta seleccionada, con potenciales consecuencias sobre su eficacia biológica. En esta fase la quimiorrecepción de contacto y la mecanorrecepción jugarían un rol importante, además del olfato y de la visión (Bernays & Chapman, 1994; Janz, 2002). La forma y el color de la hoja (Hirota & kato, 2001, Smallegange *et al.*, 2006), la densidad, diversidad y distribución de la vegetación circundante a la planta hospedante (Rausher & Papaj, 1983) y la abundancia de la misma (Heisswolf *et al.*, 2005) pueden afectar el estímulo visual. Además, la aceptación o rechazo no solamente se basa en información sensorial proveniente de señales de la planta, sino que también depende del estatus fisiológico del insecto (p.

ej. saciedad, madurez sexual, maduración de huevos, entre otros) (Schoonhoven *et al.*, 2005) y de la calidad del hospedante seleccionado en comparación a otros hospedantes potenciales (Papaj & Rausher, 1987). En relación a esto último, el valor nutritivo de las plantas puede alterarse frente a situaciones de estrés hídrico (Showler & Moran, 2003; Showler, 2013), las que ocurren cuando las precipitaciones son insuficientes o el contenido de agua en el suelo no satisface las necesidades propias del cultivo (Sekhon *et al.*, 2010; Vadez *et al.*, 2011). Bajo estrés hídrico se altera la forma en que las plantas interactúan con los insectos herbívoros y con organismos de niveles tróficos más elevados (Weldegergis *et al.*, 2015), a través de modificaciones en sus características tales como (i) resistencia a los insectos (Mody *et al.*, 2009; Gutbrodt *et al.*, 2011), (ii) valor nutritivo (Hale *et al.*, 2005; Mody *et al.*, 2007), (iii) cantidades de compuestos químicos constitutivos de defensa (Hale *et al.*, 2005; Gutbrodt *et al.*, 2012) y (IV) acumulación de aminoácidos libres, lo que resulta ventajoso para los insectos fitófagos ya que absorben nitrógeno a través del intestino como aminoácidos libres o pequeños péptidos (Brodbeck & Strong, 1987). Estas sustancias son importantes para el crecimiento, el desarrollo y la reproducción de muchos artrópodos fitófagos (Showler, 2001, 2004). Por ejemplo, plantas de mandioca (*Manihot esculenta*, Euphorbiaceae) con estrés hídrico favorecen el desarrollo y la reproducción de la cochinilla *Phenacoccus herreni* Cox & Williams (Hemiptera: Pseudococcidae) debido a los mayores niveles de aminoácidos libres y de hidratos de carbono, principalmente sacarosa (Calatayud *et al.*, 2002). En plantas con déficit hídrico la temperatura se incrementa en comparación con plantas sin estrés como consecuencia del cierre estomático, lo que genera cambios en el contenido de metabolitos, y por ello los herbívoros prefieren desovar en ellas (Showler & Moran, 2003; Weldegergis *et al.*, 2015). También las plantas estresadas disminuyen el potencial osmótico (Bussis & Heinke, 1998), intensifican el estrés oxidativo (Knight & Knight, 2001), e incrementan la acumulación de antioxidantes e iones inorgánicos (Showler & Castro, 2010), los que afectan la preferencia y el crecimiento de los artrópodos herbívoros (Showler, 2012). La intensidad en los cambios morfológicos y fisiológicos que ocurren en las plantas bajo estrés dependen de la especie vegetal, de la severidad y de la duración del estrés (Grime & Campbell, 1991). En contraposición, Price (1991) propuso la hipótesis de la *planta vigorosa*, la que postula que los insectos fitófagos, especialmente aquellos con una acentuada relación entre la oviposición de los adultos y el sitio de alimentación de la descendencia y en aquellas especies en las cuales el periodo larval se asocia con procesos de crecimiento de la planta (Preszler & Price, 1995), prefieren y se desarrollan mejor en plantas vigorosas (Scheirs & De Bruyn, 2005), debido a un mayor contenido de nutrientes y de potencial osmótico en

los puntos de crecimiento y a una menor tasa de abscisión (Cornelissen *et al.*, 2008; Tariq *et al.*, 2012).

En sentido estricto, seleccionar significa elegir entre diversas alternativas (Schoonhoven *et al.*, 2005). En la interacción insecto-planta, la selección del sitio de oviposición puede ser un compromiso entre necesidades opuestas (De Silva *et al.*, 2011). La hembra elige un sitio adecuado para colocar los huevos en base a la consideración de diferentes factores tales como, el estado nutricional de la planta, la concentración de nitrógeno, carbono, compuestos defensivos, la presencia de competidores, predadores, parasitoides y al mismo tiempo selecciona aquellos lugares que le garantizan a su descendencia mayor eficacia biológica (Wiklund, 1984, Thompson & Pellmyr, 1991; Scheirs *et al.*, 2000). Sin embargo, puede ocurrir que la hembra prefiera desovar en sitios alejados de su hospedante (De Silva *et al.*, 2011, Freitas & Kaminiski, 2014), en plantas nutricionalmente inferiores, donde el crecimiento y el desarrollo de las larvas sea subóptimo (Ballabeni *et al.*, 2001). Esta estrategia se asocia a la necesidad de las hembras de encontrar un lugar seguro para depositar los huevos, donde el riesgo de predación y parasitismo sea mínimo (De Silva *et al.*, 2011, Freitas & Kaminiski, 2014), lo que se conoce como “espacio libre de enemigos” (Price *et al.*, 1980). La hembra utiliza señales químicas y/o visuales para detectar la presencia de sus enemigos naturales. Así, mariposas del género *Eunica* (Lepidoptera: Nymphalidae) son capaces de modificar el comportamiento de oviposición cuando detectan visualmente la presencia de hormigas depredadoras en el follaje de sus plantas hospedantes (Freitas & Oliveira, 1996; Sendoya *et al.*, 2009).

Muchas de las investigaciones teóricas y empíricas referidas a la selección de plantas hospedantes por los artrópodos se basan en la teoría de oviposición óptima (Scheirs *et al.*, 2000, 2004; Mayhew, 2001, Scheirs & De Bruyn, 2002). Esta teoría, también conocida como hipótesis de *preferencia de oviposición (P)-desempeño de descendientes (D)* (HPD) (Jaenike, 1978), *hipótesis adaptacionista ingenua* o *hipótesis la madre elige mejor* (Gripenberg *et al.*, 2010), afirma que las hembras tienen un comportamiento de selección del hospedante tal que maximizan su eficacia biológica a través de la maximización del desempeño de su progenie y esto último lo consiguen colocando los huevos en hospedantes de elevada calidad nutricional (Scheirs *et al.*, 2000, 2004). En este caso, el desempeño de la progenie refiere a la supervivencia, desarrollo y reproducción, mientras que la preferencia de oviposición alude a la especie de planta en la que la hembra coloca sus huevos. En ensayos de selección, en los cuales plantas de igual tamaño de varias especies son ofrecidas

simultáneamente, la preferencia puede expresarse como la proporción de huevos depositados en cada una de las especies vegetales (Thompson, 1988).

Wise *et al.* (2008) mencionan cinco aspectos en los que la historia de vida de un insecto puede limitar la habilidad de la madre para elegir el mejor hospedante para su descendencia. (I) Fenología del herbívoro y de la planta hospedante: la relación entre preferencia de oviposición y desempeño de la descendencia (P-D) será más acentuada cuando el desove, la eclosión de las larvas y la disponibilidad del sustrato alimenticio tengan lugar en la misma estación de crecimiento, en contraposición con aquellas especies de insectos en los que el desove y la eclosión suceden en diferentes estaciones del año. En este último caso la elección de la madre tendrá un efecto menos directo. (II) La amplitud de la dieta del herbívoro: el insecto generalista tiene que poder evaluar las diferencias entre los individuos de una gran variedad de especies vegetales. (III) Movilidad del herbívoro: los estados inmaduros menos móviles dependen de la elección de la madre del sitio de oviposición, en contraposición con los inmaduros más móviles que son capaces de elegir su propio alimento. (IV) Alimentación del adulto: si la madre se alimenta de la misma planta que su progenie, entonces tiene más acceso a las señales emitidas por el hospedante que condiciona el desempeño de la descendencia. (V) Longevidad del adulto: la hembra que vive poco tiempo, en términos de su fecundidad potencial, puede estar más condicionada para colocar muchos huevos lo más rápido posible y menos presionada para ejercer su capacidad selectiva.

Al menos en insectos fitófagos, existe evidencia de un rango de correlación positiva, desde excelente a pobre, entre preferencia de oviposición y desempeño de la descendencia (Thompson, 1988; Scheirs *et al.*, 2000). Una correlación positiva fuerte se asocia fundamentalmente a características internas de la planta que son responsables de la jerarquía en la preferencia de hospedantes por parte de las hembras. Dichas características son aquellas cuyos efectos sobre los insectos inmaduros pueden ser medidos en laboratorio, tales como aspectos morfológicos (p. ej. espinas, tricomas, pelos que le brindan protección mecánica a la superficie de las plantas) o químicos de los vegetales (sustancias tóxicas: terpenos, alcaloides, fenoles, entre otros) que afectan el desarrollo larval (Nylin *et al.*, 1996). Estudios conducidos en condiciones de campo y en laboratorio demostraron una fuerte correlación entre P-D en especies de lepidópteros de diferentes familias (p. ej. Nylin & Janz, 1993; Bittencourt-Rodrigues & Zucoloto, 2005; Azerefegne & Solbreck, 2010; Mphosi & Foster, 2010).

Una correspondencia débil entre P-D puede atribuirse a una medición inadecuada del desempeño en los experimentos, ya que en muchos casos solamente se evalúan uno o dos aspectos del mismo, tales como la supervivencia larval, el tiempo de desarrollo o el peso final, cuando lo que se requiere es considerar el ciclo de vida completo del insecto (Nylin *et al.*, 1996). Otra causa de la escasa relación entre P-D puede deberse a que los insectos desoven de una manera inapropiada porque las madres evalúan deficientemente los factores que podrían influir en el desempeño de su progenie (Mayhew, 1998, 2001; Craig & Ohgushi, 2002; Scheirs & De Bruyn, 2002). Dichos factores comprenden la calidad nutricional de la planta hospedante (Lower *et al.*, 2003; Heisswolf *et al.*, 2005; Moon & Stiling, 2006), la presencia de un hospedante favorable en un sitio desfavorable (Joachim-Bravo & Zucoloto, 1997), el riesgo de predación/parasitismo (Yamaga & Ohgushi, 1999), la competencia interespecífica (Wise & Weinberg, 2002) y la exposición a estrés abiótico (p. ej. CO₂ y luz del ambiente) (Agrell *et al.*, 2006; Connor, 2006). Por ejemplo, estudios donde evaluaron la preferencia y desempeño de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) en tres plantas cítricas hospedantes (limón, naranjo y pomelo) demostraron una correlación débil entre P-D. Los autores sugirieron que dichos hospedantes representarían recursos similares para las poblaciones del minador de los cítricos, ya que los indicadores utilizados para evaluar el desempeño de la descendencia no fueron afectados por la especie de planta (Goane *et al.*, 2008). En el mismo sentido, se observó que las hembras de *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) no seleccionaron la fruta (*Carica papaya*, Caricaceae) en la cual la larva se desarrollaría mejor. Esta situación se asoció fundamentalmente con la naturaleza polífaga y multivoltina de esta especie. La hembra puede encontrar a lo largo del año varios ambientes y hospedantes posibles donde desovar, sin discriminar entre diferentes frutas (Joachim-Bravo & Zucoloto, 1997). En varias otras especies de insectos de importancia económica la correlación entre P-D es débil o inexistente (p. ej. Valladares & Lawton, 1991; Underwood, 1994; Jallow & Zalucki, 2003; Bergamini, 2013).

Se ha propuesto que la teoría del *forrajeo óptimo* explicaría la ausencia de correlación entre P-D, ya que las hembras podrían maximizar su eficacia biológica a través de la optimización del desempeño de los adultos (fecundidad lograda) (Scheirs & De Bruyn, 2002, Shikano, 2009). El forrajeo óptimo tiene el potencial de influir en la selección del hospedante ya que muchos insectos fitófagos no solamente utilizan las plantas como sustrato alimenticio de las larvas sino que también constituyen recursos para los adultos (Stephens & Krebs, 1986). Oviposición óptima y forrajeo óptimo no

pueden ser vistos como procesos independientes. Idealmente la hembra debería maximizar su eficacia biológica a través de la optimización simultánea de su desempeño y el de la descendencia (Krebs & Davies, 1997). Sin embargo los recursos óptimos tanto para los adultos como para la progenie pueden estar separados en tiempo y espacio (p. ej. Panizzi *et al.*, 1996; Miller & Ware, 2001), y las limitaciones en el tiempo de búsqueda pueden evitar la optimización de ambas estrategias causando conflicto entre padre e hijo (Nylín *et al.*, 1996; Krebs & Davies, 1997). El mejor indicador de la existencia de tal conflicto es la observación que la selección del sitio de oviposición está influenciada por la proximidad de los recursos de los adultos. Por esta razón, Scheirs & De Bruyn (2002) sugieren integrar en las investigaciones ambos procesos como una nueva herramienta para ayudar a entender las complejas interacciones entre insectos y plantas. En base a ello, Videla *et al.* (2012) analizaron la capacidad selectiva de *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) (Diptera: Agramyzidae) comparando la preferencia de oviposición y alimentación y su relación con el desempeño del adulto y de la progenie desde una perspectiva tritrófica. En relación a los resultados obtenidos destacan la importancia de evaluar simultáneamente varias de las fuerzas involucradas en el proceso de selección del hospedante por los insectos fitófagos.

Asimismo, una de las cuatro hipótesis propuesta por Thompson (1988) que podría explicar la existencia de una pobre correlación entre preferencia de oviposición y desempeño de la progenie en condiciones de campo fue la *Hipótesis del tiempo*. Esta hipótesis postula que las hembras pueden oviponer en plantas recientemente introducidas, las que no son adecuadas para el desarrollo de las larvas porque no hay suficiente tiempo evolutivo para que se incremente la habilidad de las larvas para desarrollarse y sobrevivir en ellas.

Gripenberg *et al.* (2010) estudiaron las evidencias a favor y en contra de la hipótesis PD, así como también analizaron el rol de factores individuales que influyen en la selección del hospedante. Dentro de estos últimos consideraron el grado de especialización de la dieta, el tipo de plantas (herbáceas o leñosas), las características de la progenie (móvil o sésil), gregarias o solitarias, la alimentación de los adultos y el vínculo con determinadas especies de plantas. Los resultados de este análisis proveyeron evidencias claras que sustentan la relación entre la preferencia de las hembras y el desempeño de la progenie. En general, la descendencia tendría mayor probabilidad de sobrevivir en las plantas que fueron seleccionadas por las hembras para desovar. Asimismo el número de huevos colocados por las hembras fue superior en plantas donde la progenie tuvo un mejor desempeño. Además, se constató que la

amplitud de la dieta fue el único factor que tenía injerencia en la relación P-D. El efecto fue más acentuado en los estudios en los que se involucraban a oligófagos (con un nivel intermedio de especialización) que en aquellos en los que participaban polífagos o monófagos. Es decir, la relación P-D era más acentuada en insectos especializados en plantas dentro de una cierta familia botánica que para insectos con dietas más amplias o más estrechas. Los insectos oligófagos se encontrarían bajo una fuerte presión para desarrollar preferencia por plantas de elevada calidad nutricional en relación a aquellos insectos con mayor amplitud de dieta.

En el capítulo precedente se analizó la preferencia de oviposición de *R. nu* en cultivos puros e intercultivo de girasol-soja. Los resultados obtenidos permitieron conocer que las hembras no presentan un comportamiento de desove diferencial cuando coexisten dos de sus especies vegetales hospedantes en la misma estación de crecimiento y en la misma superficie. A partir de esta información, surgió la necesidad de estudiar (I) la preferencia de oviposición en condiciones semicontroladas; (II) el desempeño de las larvas de este lepidóptero cuando se alimentan de hojas de girasol o de folíolos de soja, ya que ambos cultivos podrían representar recursos diferentes en términos de calidad nutricional; y (III) si existe una correlación positiva entre preferencia y desempeño de la progenie. En base a lo mencionado, se propusieron las siguientes hipótesis (H) y sus correspondientes predicciones (P).

Los cultivos estivales están expuestos a sequías erráticas, que dependiendo de la intensidad, momento de ocurrencia y duración pueden tener efectos devastadores. El girasol es más tolerante a la sequía que la soja. Las mayores disminuciones en el rendimiento se producen cuando los déficits hídricos ocurren alrededor de la floración del girasol y en etapas reproductivas avanzadas en el caso de la soja (Andrade & Sadras, 2002). Alteraciones en las características químicas de las hojas, en respuesta a condiciones de estrés hídrico, implican cambios en la calidad nutricional del tejido foliar de una planta hospedante, lo que condiciona la capacidad selectiva de un insecto fitófago (Moran & Showler, 2005).

H1: El contenido hídrico de las hojas de girasol y de soja favorece la preferencia de oviposición de las hembras de *Rachiplusia nu*.

P1. Las hojas con mayor contenido hídrico de cada cultivo presentarán mayor densidad de huevos de *R. nu* por superficie foliar y a su vez, la densidad de huevos será mayor en hojas no estresadas de girasol que en folíolos de soja no estresados.

H2. *Rachiplusia nu* es una especie polífaga, que por coincidir en distribución geográfica con *Helianthus annuus* ha tenido más tiempo para adaptarse a esta especie que a *Glycine max*. Esta hipótesis, que se puso a prueba en el capítulo II, se concentró en la preferencia de oviposición de hembras de *R. nu* en sistemas de intercultivo y cultivos puros en condiciones de campo. En este capítulo, se estudió la preferencia de oviposición en condiciones semicontroladas y su relación con el desempeño de la descendencia, conforme al tipo de alimento consumido por las larvas de *R. nu*.

P2. Las larvas de *R. nu* que se alimentan de hojas de girasol se desarrollarán en menor tiempo, sobrevivirán más y alcanzarán un mayor peso pupal en relación a aquellas que consumen folíolos de soja en los estados inmaduros.

H3. La preferencia de oviposición de *R. nu* en condiciones semicontroladas se corresponde con el desempeño de la progenie, en términos de tasa de desarrollo, supervivencia y peso pupal.

P3. Las larvas de *R. nu* tendrán mejor desempeño en el cultivo preferido para la oviposición

OBJETIVOS

1. Analizar la preferencia de oviposición de *R. nu* frente a girasol y soja.
2. Determinar la influencia del contenido hídrico de las hojas de girasol y soja en la capacidad selectiva de las hembras.
3. Evaluar el desempeño, en cuanto a desarrollo larval, supervivencia y peso de las pupas de *R. nu*, en relación al alimento consumido.
4. Relacionar la preferencia de oviposición de *R. nu* en condiciones semicontroladas con el desempeño de la descendencia, de acuerdo al alimento consumido por las larvas.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. PREFERENCIA DE OVIPOSICIÓN

1.1. Material biológico

Durante la primera quincena del mes de enero de 2013, se colectaron especímenes adultos de *R. nu*, provenientes de las capturas de la trampa de luz instalada en la EEA Paraná del INTA. Dichos ejemplares se colocaron en tubos de apareamiento, contruidos con láminas de acetato, con base de poliestireno expandido, paredes cubiertas con papel absorbente y tela tipo “voile” en su extremo superior para facilitar la manipulación del material biológico (Figura 3.1). Los tubos permanecieron bajo condiciones controladas de temperatura ($26 \pm 3^{\circ}\text{C}$) y luz (14 L: 10 O). Se les proveyó de algodones embebidos en una solución acuosa azucarada (miel de abeja) al 10% v/v como fuente alimenticia, los que se reemplazaron diariamente. Luego del apareamiento las hembras colocaron los huevos en papel absorbente blanco, los que se retiraron y depositaron en cajas de Petri plásticas hasta la emergencia de las larvas. Las neonatas se acondicionaron individualmente en recipientes plásticos (10 cm largo x 7 cm ancho x 4 cm altura), y se les suministraron pequeñas porciones de dieta artificial (Figura 3.2).



Figura 3.1. Tubos de apareamiento para *R. nu*.

Se utilizó la propuesta por Greene *et al.* (1976), modificada por Molinari (2007)¹, ya que es la más adecuada para la cría de esta especie (Diez & Gamundi, 1991b). Una vez elaborada esta dieta merídica (Dougherty, 1959) se almacenó en heladera, para su posterior utilización como fuente alimenticia.

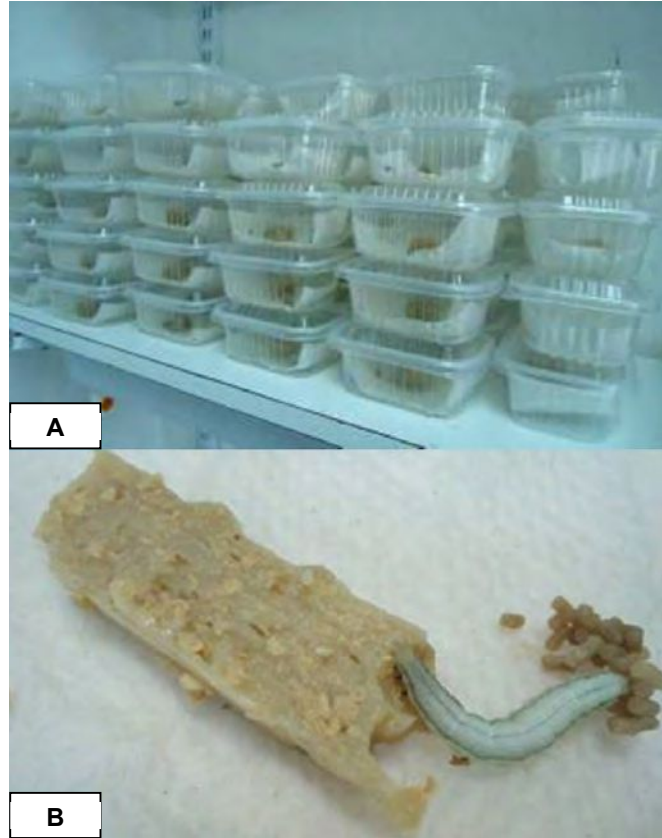


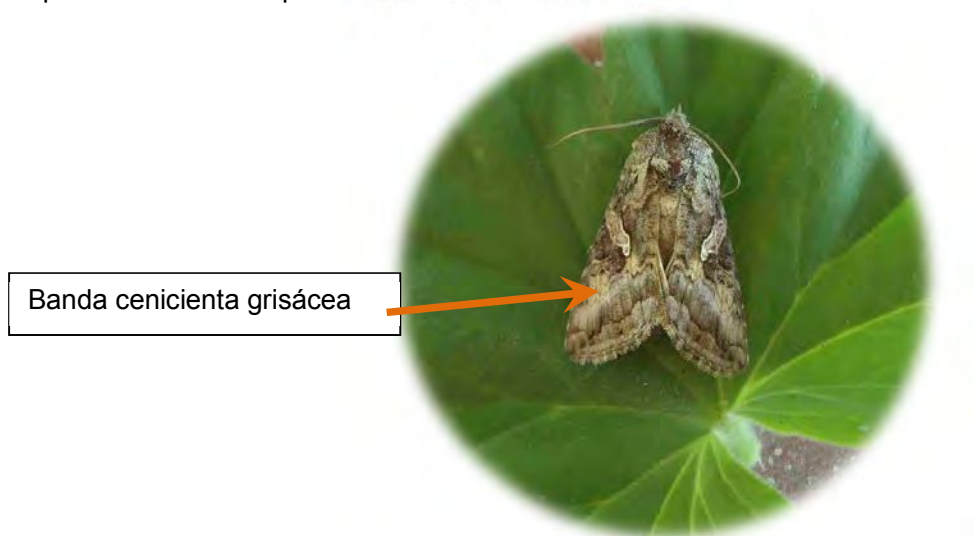
Figura 3.2. A: Recipientes plásticos para la cría de las orugas. B: larva de *R. nu* alimentándose de dieta artificial.

Las larvas se sexaron en base a la presencia de máculas rectangulares a nivel dorsal abdominal, de color amarillo, únicamente visibles en los ejemplares machos (Pereyra, 2011 Com. pers.) (Figura 3.3). Al emerger los adultos se corroboró el sexo mediante la observación, en el par de alas anterior, de una banda ceniciento grisácea más ancha y notoria en machos que en hembras (Navarro *et al.*, 2009) (Figura 3.4).

¹ Poroto (62,5 g), germen de trigo (50 g), harina de soja (25 g), caseína (25 g), levadura virgen (31,25 g), agar (16 g), agua destilada (1 l), ácido ascórbico (3 g), nipagin (2,5 g), ácido sórbico (1,5 g), tetraciclina (500 mg), formol (3 cc), aceite germen de trigo (1,25 cc), vitaminas (1 pastilla) y micostatin (5 gotas).



Figura 3.3. Máculas dorsales de color amarillo presentes en los especímenes machos de *R. nu*.



Banda cenicienta grisácea

Figura 3.4. Ejemplar adulto de *R. nu* mostrando la banda cenicienta grisácea, más notoria en machos que en hembras.

Cuando las larvas del último estadio comenzaron a tejer el capullo de seda, se les retiró el alimento y las prepupas se colocaron en cajas de Petri abiertas, dentro de otros recipientes plásticos con base de papel absorbente al que se le adicionó 2 ml de agua, para mantener la humedad. Una vez que emergieron los adultos, se agruparon por parejas (macho y hembra), los que se utilizaron en los experimentos de elección del sitio de oviposición.

1.2. Determinación del área foliar equivalente

Para la ejecución de los ensayos de preferencia de oviposición, el 11 de enero de 2013 se sembraron dos parcelas de 0,25 ha cada una, de cultivos puros de girasol (NK 46 CL) y soja (A 8000 RG). Setenta y dos horas previas a la realización de los experimentos se extrajeron del campo 10 plantas al azar de soja y de girasol. Las

mismas se encontraban en los estados fenológicos (E.F.) V12 (duodécima hoja trifoliada totalmente desarrollada) (Fehr & Caviness, 1977) y R1 (estado de “estrella”: la inflorescencia rodeada de brácteas inmaduras es visible) (Schneiter & Miller, 1981), de soja y girasol respectivamente. Se cortaron en la base del pecíolo los folíolos centrales del tallo principal de las plantas de soja y las hojas del tercio superior de las plantas de girasol. Las mismas se pesaron en una balanza de precisión y se registraron los datos de ancho y largo de cada folíolo u hoja, los que estuvieron comprendidos dentro de los siguientes rangos:

Soja: Largo: [6,40-11,00 cm]; Ancho: [3,80-6,40 cm]; Peso: [0,30-0,75 g]

Girasol: Largo: [9,00-19,00 cm]; Ancho: [7,80-17,00 cm]; Peso: [1,71-8,22 g]

Luego, esas mismas hojas de girasol y folíolos de soja se midieron con un medidor de área foliar Li 3100 (Li-Cor® Lincoln, Nebraska USA). Las regresiones lineales entre ancho x largo estimado (medido con regla) y el área foliar medida con Li 3100 resultaron buenos estimadores del área foliar (Adami *et al.*, 2008) (Soja: $y = 0,65x + 1,5778$, $R^2 = 0,97$; Girasol: $y = 0,57x + 5,3462$, $R^2 = 0,98$). Se recurrió a este análisis dado que al momento de realizar el experimento se debía garantizar la menor manipulación del material vegetal, por lo que era necesario evitar pasar las hojas y los folíolos por el medidor mencionado.

A partir de los datos de peso de las hojas de girasol y de los folíolos de soja y de las correspondientes áreas foliares medidas con el instrumento mencionado, se ajustaron dos ecuaciones (Ec. 1 y Ec. 2) para estimar la cantidad de hojas de girasol y de folíolos de soja que debían considerarse por florero, a los efectos de garantizar que el área foliar de cada cultivo, ofrecida a las hembras de *R. nu* para colocar sus huevos, fuera la misma. Se trabajó con valores acumulados ya que resulta más adecuado para predecir el área foliar y el peso de un conjunto de hojas/folíolos, haciendo referencia al grupo de hojas/folíolos que integran cada florero.

$$Y = 61,249x - 7,7808 \quad (\text{Ec. 1})$$

donde:

Y: área foliar de girasol (cm²)

x: gramos de soja necesarios para igualar el área foliar de girasol (g)

$$Y = 21,819x - 5,4457 \quad (\text{Ec. 2})$$

donde:

Y: área foliar de soja (cm²)

x: gramos de girasol necesarios para igualar el área foliar de soja (g)

Una vez ajustada la Ec. 1 y la Ec. 2 se cortaron plantas de girasol y de soja de las parcelas experimentales y en gabinete se seleccionaron hojas y folíolos de tamaño y peso comprendido dentro del rango mencionando. Luego se colocaron hojas de girasol dentro de un florero plástico de 0,5 l de capacidad con la finalidad de conocer la cantidad de hojas que debería considerarse por recipiente. A dichas hojas se les midió el ancho y el largo para estimar el área foliar. El valor acumulado correspondiente a las áreas foliares estimadas de girasol se reemplazó en la Ec. 1 y mediante un pasaje de términos de los parámetros de la ecuación, se obtuvieron los gramos de soja necesarios para equiparar el área foliar de girasol previamente estimado. El mismo procedimiento se utilizó para conocer los gramos de girasol necesarios para equiparar el área foliar de soja, a partir de la Ec. 2.

1.3. Prueba de no elección (*No- Choice Test*)

Se construyeron jaulas de vuelo de 1 m de longitud, 0,50 m de altura y 0,50 m de ancho, con paredes de voile (Figura 3.5). En una de las jaulas se colocaron 5 floreros con hojas de girasol de 0,5 litros cada uno, y en la otra 5 recipientes con hojas de soja, equivalentes según Ec. 1 y Ec. 2. Los pecíolos de ambos cultivos fueron sumergidos en el agua contenida en los floreros. Dichos recipientes se distribuyeron en forma de "M", evitando que las hojas entraran en contacto con la tela de voile. Se adicionaron algodones embebidos en una solución azucarada al 10% v/v en cada jaula experimental, los que fueron reemplazados diariamente. Se transfirieron 8 parejas de adultos de *R. nu* de aproximadamente 72 horas de emergido, a cada una de las jaulas. Transcurridas 48 horas se retiraron las hojas de ambos cultivos y se procedió a contar la cantidad de huevos depositados por las hembras en las superficies foliares. Para ello se utilizó un microscopio estereoscópico binocular marca Nikon® modelo SMZ-645, con un aumento de hasta 50X. En este ensayo se consideraron 4 réplicas por tratamiento.

1.4. Prueba de elección (*Choice test*)

Para la ejecución de este ensayo se utilizaron cuatro jaulas de vuelo de 1 m de altura x 1,4 m de largo x 0,8 m de ancho, de madera, recubiertas por voile y con dos cierres al frente para permitir el acceso al interior de las mismas (Figura 3.6). Se establecieron cuatro tratamientos y cuatro réplicas (1 jaula= 1 réplica). Dentro de cada jaula se ubicaron los siguientes tratamientos, siguiendo un diseño completamente aleatorizado:

- 1- soja sin estrés hídrico.
- 2- soja con estrés hídrico (colocadas en recipientes sin agua durante 24 horas previas a la realización del ensayo).
- 3- girasol sin estrés hídrico.
- 4- girasol con estrés hídrico (colocadas en recipientes sin agua durante 24 horas previas a la realización del ensayo).

Estos tratamientos tuvieron como objetivo simular situaciones bien contrastantes en relación al contenido hídrico de las hojas de girasol y los folíolos de soja de tal manera de poder evaluar la capacidad selectiva de *R. nu*, en términos de preferencia de oviposición. Para generar marchitez acentuada (estrés hídrico) se propuso como metodología, que las hojas de girasol y los folíolos de soja permanecieran 24 horas previas a la realización del ensayo en recipientes desprovistos de agua, de tal manera de lograr un efecto pronunciado de déficit hídrico. Al utilizar únicamente hojas, se interrumpe el proceso de absorción de agua a través de las raíces, por lo que la deshidratación tuvo lugar en forma inmediata (Figura 3.7).

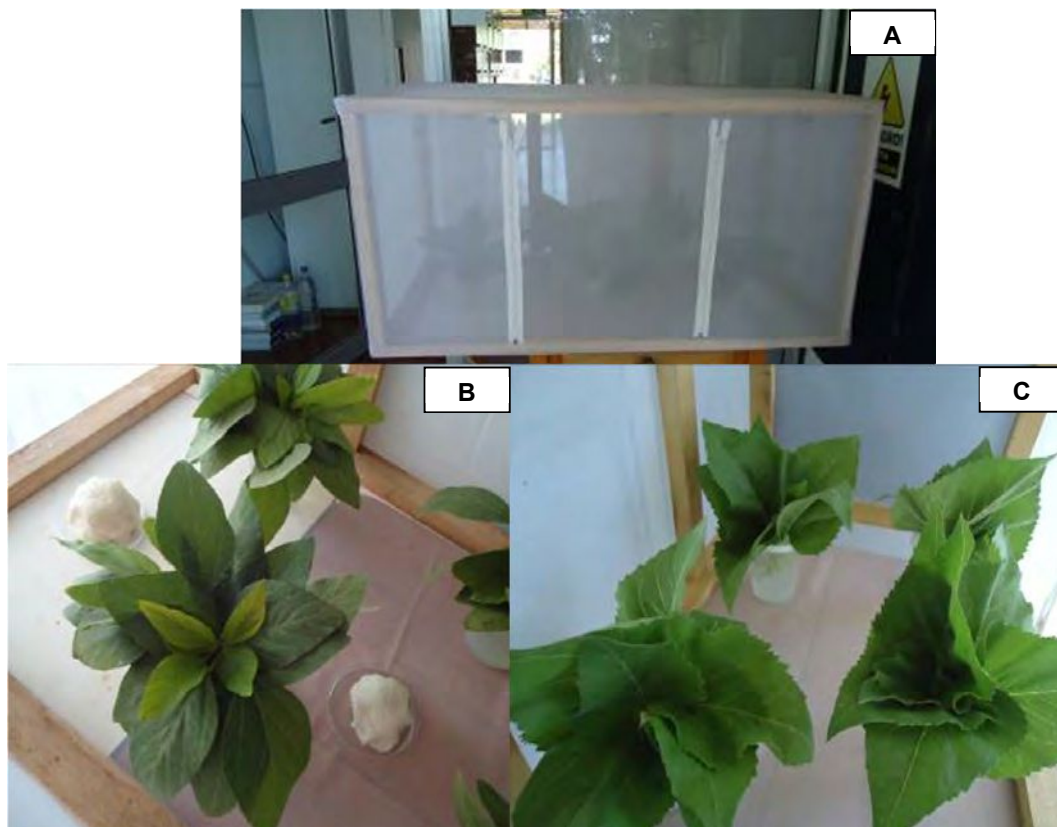


Figura 3.5. Jaula de vuelo (A), interior de la jaula donde se observan los floreros con los folíolos de soja (B) y con las hojas de girasol (C).



Figura 3.6. Cuatro jaulas de vuelo donde se realizaron los experimentos de selección del sitio de oviposición con hembras de *Rachiplusia nu.*

Dentro de cada jaula se colocaron 15 parejas de *R. nu* de aproximadamente 72 horas de emergidas y se ubicaron dos floreros plásticos de 0,5 l de capacidad por tratamiento considerado, distribuidos al azar y en forma de óvalo, sin que las hojas tocaran las paredes de voile. También se les proveyeron algodones embebidos en solución azucarada, descritos anteriormente. Las jaulas se rotaron a las 24 horas de iniciado el experimento para garantizar que todas recibieran la misma cantidad de horas de luz (Figura 3.8).

A las 48 horas se retiraron todas las hojas y se procedió a contar la cantidad de huevos depositados por las hembras en las superficies foliares de cada tratamiento, bajo microscopio estereoscópico. Ambas pruebas (elección y no elección) se condujeron en condiciones semicontroladas a una temperatura de $26 \pm 3^{\circ}\text{C}$ y un fotoperiodo natural (8 horas de luz correspondiente al mes de marzo).



Figura 3.7. A: Interior de una jaula de vuelo mostrando los floreros con los diferentes tratamientos; B: folíolos de soja sin estrés hídrico (izquierda) y con estrés hídrico (derecha); C: hojas de girasol con estrés hídrico (izquierda) y sin estrés hídrico (derecha).

1.5. Análisis de datos

Los datos se analizaron mediante análisis de la variancia previa conversión a LN (x). Las medias se compararon a través del Test de Duncan ($\alpha < 0,05$) y se utilizó el software estadístico InfoStat versión 2008 (Di Rienzo *et al.*, 2008).

2. DESEMPEÑO DE LARVAS

2.1. Sustrato Vegetal

El 20 de diciembre de 2012, en un lote de la EEA Paraná del INTA se sembraron dos parcelas de 30 m de largo por 10 m de ancho, una de girasol (NK 46 CL) y la otra de soja (A 8000 RG). La densidad de siembra fue de 4 plantas.m⁻¹ de girasol y 24 plantas.m⁻¹ de soja, con un distanciamiento entre surcos de 0,52 m.

2.2. Larvas de *Rachiplusia nu*

Para la realización de los experimentos se utilizaron larvas de *R. nu* recién nacidas provenientes de la cría mediante dieta artificial (ver descripción en sección 1.1. del presente capítulo). Se recurrió a insectos criados sobre dieta artificial a fin de evitar los posibles efectos de la historia nutricional de generaciones previas sobre la preferencia de la planta hospedante (Greenberg *et al.*, 2002; Panizzi *et al.*, 2004; Barros *et al.*, 2010; Naseri *et al.*, 2011).

2.3. Metodología del experimento

Se extrajeron hojas sanas de girasol (E.F. V4-V10) y de soja (E.F. V2-V8) de plantas desarrolladas en el campo. En el laboratorio se procedió a su lavado con la finalidad de eliminar bacterias o inóculos fúngicos que pudieran afectar el normal desarrollo de las larvas. Para ello se sumergieron las hojas en una solución de hipoclorito de sodio (4 ml de hipoclorito de sodio por litro de agua destilada), durante 15 minutos. Luego, se las sacudió tres veces y se enjuagaron en agua corriente para retirar posibles restos de hipoclorito (Panizzi *et al.*, 2008). Cabe destacar que este tratamiento no afecta el consumo de tejido vegetal (Portillo & Pitre, 1992). Con posterioridad, sobre una mesada cubierta con papel absorbente, se escurrieron las hojas y se armaron las unidades de alimentación. En cada una de estas se incluyeron dos a tres hojas de girasol o soja, unidas en la base de los pecíolos por un algodón embebido en agua, de tal forma de garantizar la turgencia del material vegetal.

Las unidades de alimentación se colocaron en recipientes plásticos de aproximadamente 20 cm de largo x 15 cm de ancho y 4,5 cm de altura (COTNYL

S.A®, MOD. 105R). El óvalo de la parte central de la tapa se retiró y en su lugar se colocó un trozo de voile adherido mediante pegamento de contacto (especial 101 Fortex®), con el objetivo de evitar la condensación del agua y facilitar el intercambio gaseoso. La base del recipiente se tapizó con un trozo de papel absorbente, recortado a medida, con 2 ml de agua destilada para mantener la humedad (Figura 3.8).

Tanto el sustrato alimenticio como los recipientes plásticos se cambiaron cada 48 horas para mantener un ambiente de cría aséptico.

Mediante un pincel de cerda fina se depositó una larva recién emergida sobre las hojas frescas de girasol o de soja, según tratamiento. Se colocó una larva por recipiente. Los tratamientos fueron 1) larvas de *R. nu* alimentadas con folíolos de soja; 2) larvas de *R. nu* alimentadas con hojas de girasol.

Las variables consideradas para estudiar el desempeño fueron:

- Duración del período larval (DPL): Número de días comprendido entre el momento en que la larva emerge del huevo y el inicio del estado de prepupa, es decir, cuando la larva deja de alimentarse, se inmoviliza y comienza a tejer el capullo con hilos de seda.
- Duración del período pupal (DPP): Número de días comprendido entre el inicio del estado de prepupa y la emergencia del adulto.
- Duración total (DPT): Duración en días de los dos períodos anteriores. En este periodo no se incluye la duración del estado de huevo (desarrollo embrionario).
- Peso fresco (g) de las pupas (PFP).
- Supervivencia: número de individuos (larvas + pupas) que alcanzaron el estado adulto.

El número inicial de larvas por tratamiento fue de 150 especímenes (un recipiente plástico = una réplica). Las larvas se sexaron en base a la presencia de máculas, tal como fue descrito en párrafos anteriores. El experimento se llevó a cabo en una habitación preparada para la cría de insectos, con aire acondicionado, a una temperatura de $26 \pm 3^{\circ}\text{C}$, un fotoperiodo de 14 horas de luz: 10 horas de oscuridad, regulado mediante un *timer* (TBC®, 24 hours Time Switch TS-MG3). La temperatura se registró aproximadamente 6 veces en el día mediante un termómetro digital. El ensayo duró entre 21 y 28 días, en función del tratamiento.

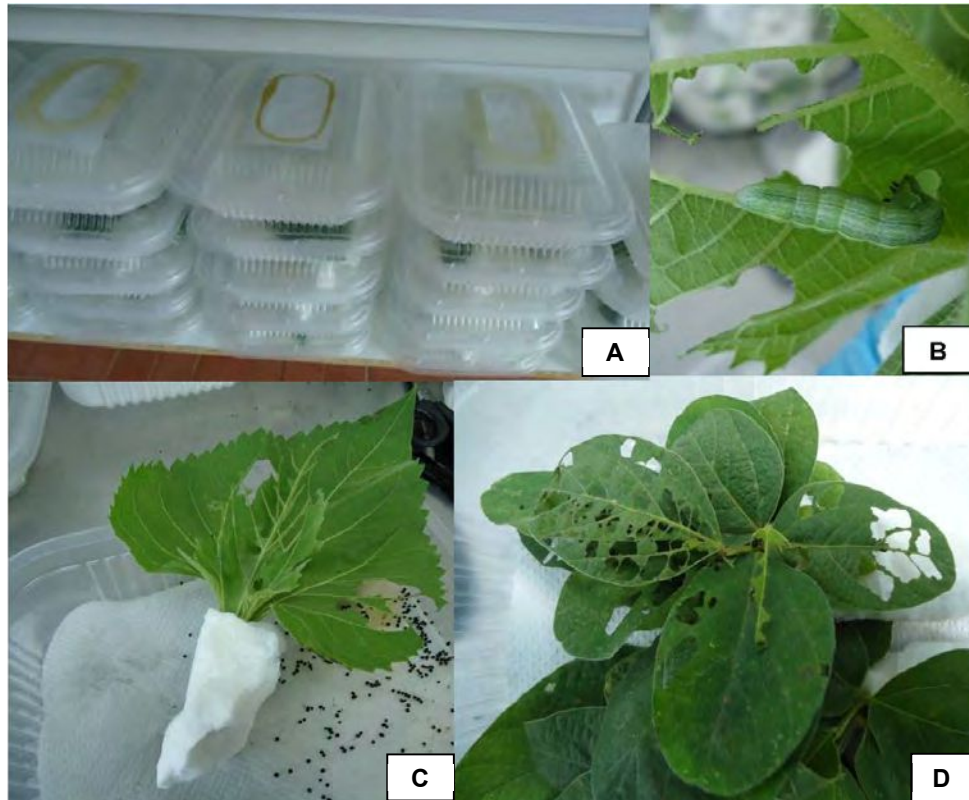


Figura 3.8. Recipientes plásticos utilizados en el experimento (A), larva de *R. nu* alimentándose de hojas de girasol (B), unidades de alimentación de girasol (C) y de soja (D).

Las pupas se pesaron entre las 48 y 72 horas de haberse conformado, mediante una balanza analítica Precisa® 40SM-200^a (0,0001 g) (Figura 3.9).



Figura 3.9. Balanza de precisión utilizada para pesar las pupas de *R. nu* y vista del plato de acero inoxidable sobre el cual se encuentra la pupa.

2.4 Análisis de datos

2.4.1. Duración de los estados de desarrollo

El diseño fue completamente aleatorizado con arreglo factorial anidado de los tratamientos. El número de réplicas por tratamiento fue de 150. La duración de los tres períodos de desarrollo en función del tipo de alimento consumido se expresó como tasa de desarrollo (días⁻¹), calculada como la recíproca del tiempo (días) de desarrollo (Curry & Feldman, 1987). Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza a través del procedimiento denominado Contraste de Rangos Alineados (Stavropoulos & Caroni, 2008; Wobbrock *et al.*, 2011). Esta metodología consiste en una prueba no paramétrica que permite analizar diseños factoriales, considerando que los niveles del factor B se encuentran anidados bajo los niveles del factor A. En este estudio los factores fueron cultivo (Factor A), con los niveles girasol y soja, y sexo (Factor B) con los niveles macho y hembra.

La prueba permite transformar los datos a rangos alineados para poder testear si existe efecto de los factores, dado que, la distribución de la variable no es normal. Hay antecedentes que avalan su aplicación en experimentos entomológicos (Payton *et al.*, 2006).

El modelo lineal para este diseño es el siguiente:

$$\gamma_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta(\alpha)_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad (\text{Ec. 3})$$

donde,

μ : media del modelo

α_i : efecto del cultivo (factor A)

$\beta(\alpha)_{ij}$: efecto del sexo (factor B) dentro de cada cultivo

ε_{ijk} : término de error.

Alfa= factor A

Beta= factor B

$i = 1$ y 2

$j = 1$ y 2

k =número de repeticiones de 1 a n_i

Luego se aplica la transformación denominada de rangos alineados:

$$\gamma'_{ijk} = \text{Rango} (\gamma_{ijk} - \alpha_i - \beta_j) \quad (\text{Ec. 4})$$

Y reemplazando γ_{ijk} por Ec.3 se obtiene

$$\gamma'_{ijk} = \text{Rango}[(\mu_{ij} - \mu_{i.} - \mu_{j(i)} + \mu_{..} + \varepsilon_{ijk})] \quad (\text{Ec. 5})$$

donde,

μ_{ij} : media obtenida en la condición experimental definida por la conjunción de niveles i del factor A y j del factor B.

$\mu_{i.}$: media marginal del nivel i del factor A.

$\mu_{j(i)}$: media marginal del nivel j del factor B dentro del nivel i del factor A.

$\mu_{..}$: media total.

ε_{ijk} : término de error.

Los análisis se realizaron mediante el procedimiento Mixed del paquete estadístico Statistical Analysis System, SAS (2004) y las medias se compararon a través del Test LSD ($\alpha=0,05$).

2.4.2. Peso fresco pupal

Los datos se analizaron mediante el modelo de diseños anidados, a través de un ANAVA, a partir de los datos originales en el cual, el factor B está anidado dentro del factor A (Diazaraque, 2006). En este caso los factores fueron alimento (Factor A), con los niveles girasol y soja, y sexo (Factor B) con los niveles macho y hembra.

El modelo lineal para este diseño es el siguiente:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta(\alpha)_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad (\text{Ec. 6})$$

donde,

μ : media del modelo

α_i : efecto del cultivo (factor A)

$\beta(\alpha)_{ij}$: efecto del sexo (factor B) dentro de cada cultivo

ε_{ijk} : término de error.

Alfa: factor A

Beta: factor B

$i = 1$ y 2

$j = 1$ y 2

k = número de repeticiones de 1 a n_i

Las medias se compararon a través del Test de Duncan ($\alpha=0,05$) y se utilizó el software estadístico InfoStat versión 2008 (Di Rienzo *et al.*, 2008).

2.4.3. Supervivencia

Se registró el número de individuos (larvas + pupas) que alcanzaron el estado adulto (vivos) y los que no sobrevivieron (muertos), cuyas larvas se alimentaron de girasol o soja. A fin de determinar si la proporción de individuos vivos y muertos, en relación al alimento consumido en la etapa larval, era la misma se realizó la Prueba Chi Cuadrado de Homogeneidad ($\alpha = 0.05$), utilizando el paquete estadístico InfoStat versión 2017 (Di Rienzo *et al.*, 2017).

Las hipótesis planteadas fueron:

$$H_0) p_{vG} = p_{vS}$$

$$H_1) p_{vG} \neq p_{vS}$$

Donde p_{vG} y p_{vS} , corresponden a la proporción de individuos vivos que consumieron girasol y soja respectivamente

RESULTADOS

1. PREFERENCIA DE OVIPOSICIÓN

En los ensayos de selección del sitio de oviposición (*choice* o *no-choice*) se observó una mayor densidad de huevos en las hojas de girasol, lo que demuestra la preferencia de las hembras de *R. nu* por desovar en este hospedante (Figura 3.10 A).

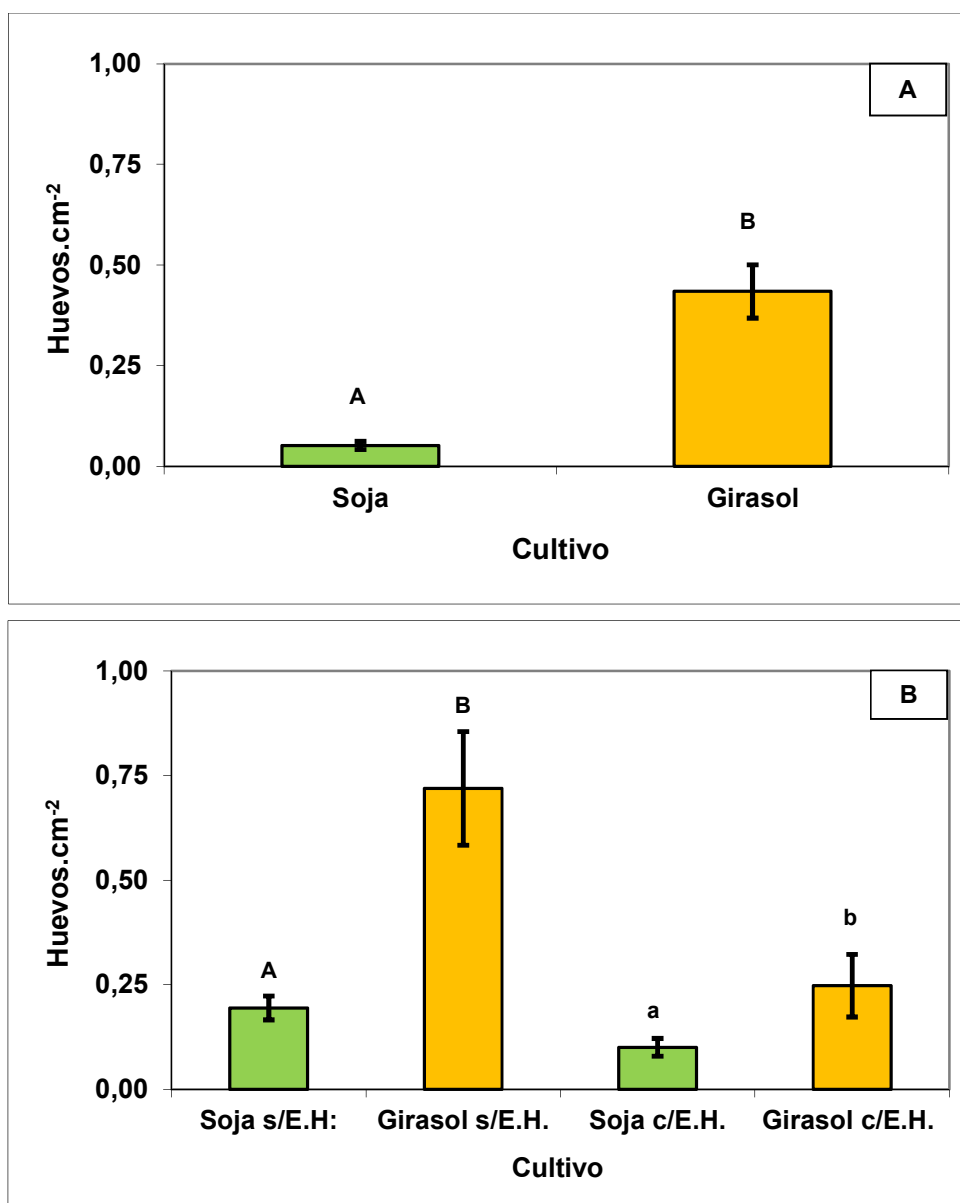


Figura 3.10. Densidad media de huevos.cm⁻² (\pm D.E.) de *R. nu* registrados en las pruebas de No Elección (A) y Elección (B) del sitio de oviposición. s/E.H.: sin estrés hídrico; c/E.H.: con estrés hídrico. Letras distintas entre alimentos y entre condición (c/E.H. y s/E.H.) indican diferencias significativas $\alpha=0,05$.

En la prueba de no elección, la densidad media de huevos.cm⁻² halladas en las hojas de girasol y en los folíolos de soja resultó estadísticamente significativa (F=64,21; p<0,001).

En el experimento en el cual la hembra de *R. nu* pudo optar por el sitio de oviposición, el número de huevos.cm⁻² fue afectado por el cultivo (girasol o soja) y la condición (con y sin estrés hídrico) (Tabla 3.1), aunque la interacción cultivo x condición no fue estadísticamente significativa (F=1,25; p=0,29) (Figura 3.10 B).

En girasol, la densidad de huevos por superficie foliar fue tres veces superior que en los folíolos de soja, registrándose diferencias estadísticamente significativas entre cultivos. En superficies foliares sin estrés hídrico, independientemente del cultivo, el número de huevos.cm⁻² fue significativamente mayor que en aquellos tratamientos donde las hojas se encontraron con 24 horas de estrés hídrico (Tabla 3.1).

Tabla 3.1. ANAVA para la densidad media de huevos.cm⁻² de *R. nu* (\pm E.E.) según cultivo y condición, en la prueba de elección del sitio de oviposición.

		Huevos.cm ⁻² (Media \pm E.E.)	F	Valor de p
Cultivo	Girasol	0,48 \pm 0,11	25,89	<0,001
	Soja	0,15 \pm 0,02		
Condición	Sin estrés hídrico	0,46 \pm 0,12	20,81	0,001
	Con estrés hídrico	0,17 \pm 0,05		

2. DESEMPEÑO DE LA DESCENDENCIA

2.1. Tasa de desarrollo de *R. nu*

Para los tres períodos de desarrollo considerados, larval (PL), pupal (PP) y total (PT), el tipo de alimento ingerido por las larvas de *R. nu* afectó la tasa de desarrollo, mientras que el sexo de los individuos dentro de cada alimento no influyó sobre dicha variable (Tabla 3.2).

Tabla 3.2. ANAVA para los factores alimento (girasol o soja) y sexo (anidado dentro del alimento) en relación a los tres períodos de desarrollo de *R. nu*.

Periodo de desarrollo	Efecto	F	Valor de p
PL	Alimento	2084,00	<0,001
	Sexo (alimento)	0,23	0,798
PP	Alimento	36,78	<0,001
	Sexo (alimento)	0,40	0,627
PT	Alimento	680,80	<0,001
	Sexo (alimento)	0,46	0,630

PL: período larval; PP: período pupal; PT: período total (total del desarrollo post-embriionario).

La tasa de desarrollo de *R. nu* fue entre 6 y 20% superior cuando las larvas se alimentaron de girasol, en comparación a la tasa de desarrollo de aquellas larvas que crecieron sobre folíolos de soja (Figura 3.11).

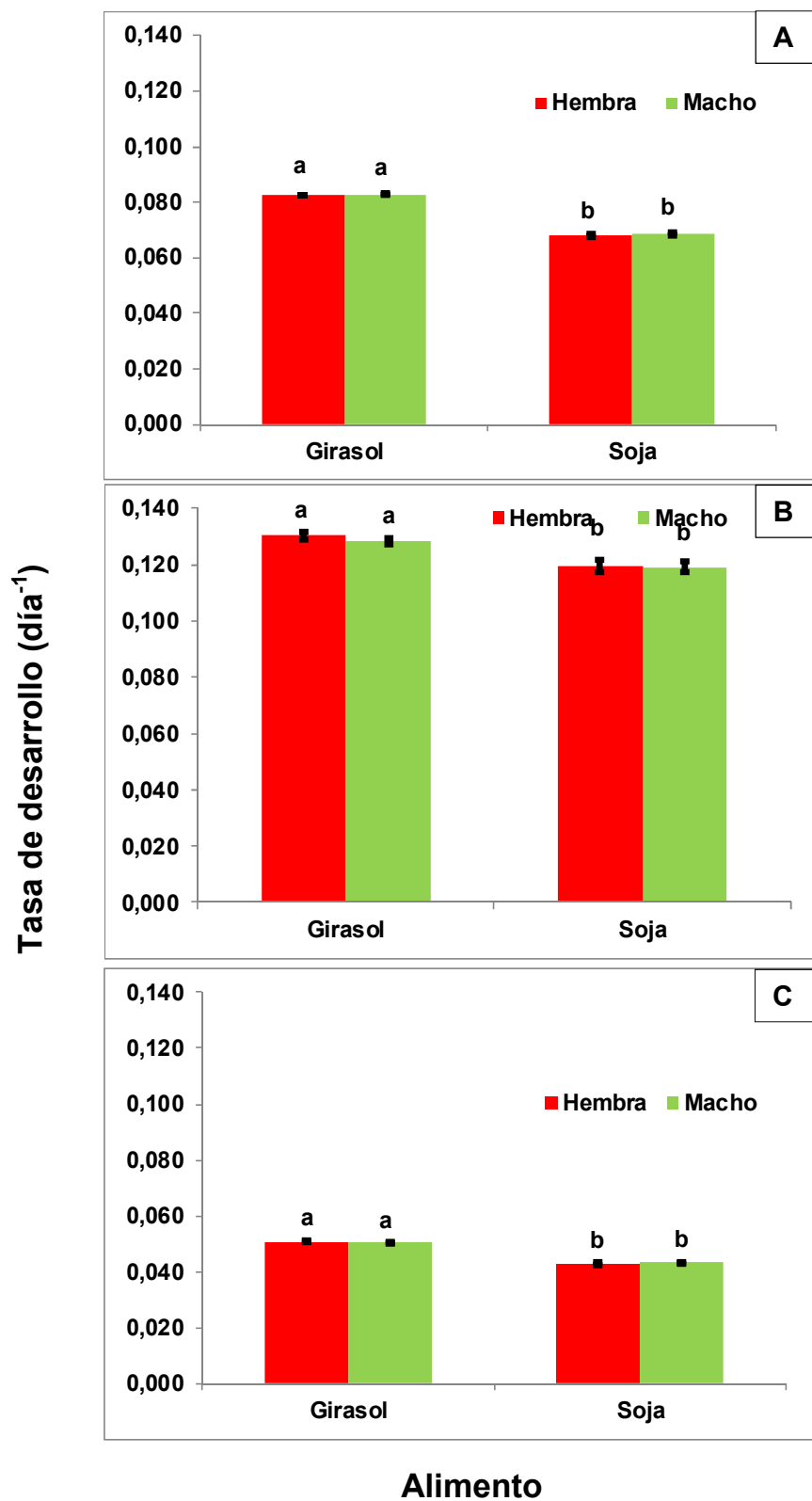


Figura 3.11. Tasa de desarrollo de *R. nu* (valores sin transformar a rangos alineados) en los períodos larval (A), pupal (B) y total (C), de acuerdo al tipo de alimento ingerido por las larvas. Letras distintas entre alimentos indican diferencias significativas $\alpha=0,05$.

2.2. Peso de las pupas de *R. nu*

El peso de las pupas, que durante la etapa larval se alimentaron de hojas de girasol, fue entre 8 y 25% superior con respecto al peso pupal de aquellas que consumieron folíolos de soja en los estados inmaduros, diferencias que fueron estadísticamente significativas ($F=155,66$; $p<0,001$; g.l.= 1) (Figura 3.12).

El sexo de las pupas de *R. nu* no influyó sobre el peso de las mismas ($F=2,55$; $p=0,08$; g.l.= 2) (Figura 3.12).

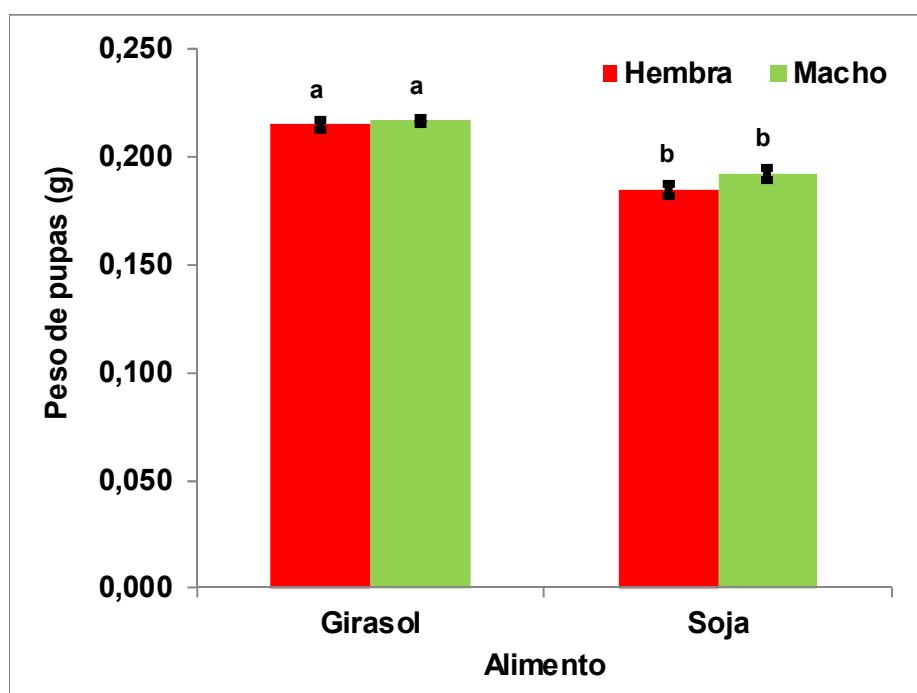


Figura 3.12. Peso de las pupas de *R. nu* (g) (media \pm E.E.) machos y hembras cuyas larvas se alimentaron de folíolos de soja o de hojas de girasol. Letras distintas entre alimentos indican diferencias significativas $\alpha=0,05$.

2.3. Supervivencia

El 79% y el 83% de las larvas que se alimentaron de folíolos de soja y de hojas de girasol, respectivamente, alcanzaron la etapa adulta. De acuerdo a la prueba de homogeneidad, la proporción de individuos que sobrevivieron fue la misma para las larvas que se alimentaron de girasol o de soja ($\chi^2 = 0,5415$; $P = 0,4618$).

DISCUSIÓN

1. PREFERENCIA DE OVIPOSICIÓN

La teoría de oviposición óptima predice que las hembras prefieren depositar los huevos en aquellas plantas hospedantes que maximicen el desempeño de su progenie (Jaenike, 1978). El sitio más apropiado será aquel que le garantice a la descendencia mayor disponibilidad de recursos alimenticios y menor riesgo de mortalidad debido al microhábitat y a los enemigos naturales (Hamed & Khattak, 1985; Ballabeni *et al.*, 2001; Janz, 2002; Nomikou *et al.*, 2003). En ambas pruebas de elección del sitio de oviposición (*choice o no choice*) la hembra adulta de *R. nu* prefirió colocar sus huevos en las hojas de girasol y en aquellas que no presentaron síntomas de estrés hídrico. Los resultados obtenidos en la presente tesis constituyen la primera referencia sobre el comportamiento selectivo de este noctuido plaga, en condiciones semicontroladas.

En especies taxonómicamente relacionadas a *R. nu*, con rangos muy amplios de plantas hospedantes como las que integran el complejo *Spodoptera* spp. (Lepidoptera: Noctuidae), los resultados obtenidos en diferentes investigaciones, en términos de preferencia de oviposición son contradictorios (Portillo *et al.*, 1996; Greenberg *et al.*, 2002; Barros *et al.*, 2010). Así, en el caso de *S. exigua* (Hübner) se observó un orden jerárquico de preferencia de oviposición, ya que la mayor proporción de huevos depositados por la hembra se registró sobre *Amaranthus retroflexus* L., seguida por *Gossypium hirsutum* L. y *Capsicum annuum* L., mientras que *Helianthus annuus* L. y *Brassica oleracea capitata* L. resultaron ser las especies menos atractivas (Greenberg *et al.*, 2002). En contraposición, Barros *et al.* (2010) sugirieron que la ausencia de selección de las hembras de *S. frugiperda* por uno de los hospedantes ofrecidos (algodón, soja, maíz y mijo) podría deberse a la polifagia que caracteriza a esta especie plaga y a la elevada capacidad de dispersión de las larvas neonatas. Dicha ausencia de preferencia podría relacionarse, además, con la variable utilizada para evaluar la capacidad selectiva. En ese experimento se registró la proporción de oviposturas entre las especies de plantas ofrecidas sin tener en cuenta que las mismas presentan estructuras foliares diferentes. Solamente maíz y mijo podrían asemejarse ya que ambas pertenecen al grupo de las poáceas, mientras que la soja es una fabácea y el algodón una malvácea. Si bien las evaluaciones se realizaron en los mismos estados fenológicos, no se consideró que cada una de estas especies vegetales presentan áreas foliares distintas e inclusive algunas de ellas tienen hojas simples y otras compuestas, lo que podría modificar los resultados obtenidos si se expresaran como cantidad de desoves.cm⁻² (Barros *et al.*, 2010). En otro estudio, el

porcentaje del total de huevos depositados por la hembra de *S. latifascia* (Lepidoptera: Noctuidae) por planta fue similar en maíz (32%) y en otras dos especies vegetales no cultivadas como *Amaranthus* sp. (Amaranthaceae) (24%) e *Ixophorus unisetus* (Poaceae) (26%), por lo tanto esta especie tampoco sería muy selectiva a la hora de elegir el hospedante donde colocar sus huevos (Portillo *et al.*, 1996). En este caso, al igual que en la investigación precedente, no se tuvo en cuenta la importancia de considerar áreas foliares equivalentes para expresar la densidad de huevos, aunque los experimentos se realizaron cuando todas las especies testeadas presentaron una determinada cantidad de hojas verdaderas (Portillo *et al.*, 1996). La determinación del área foliar resulta indispensable para comparar la densidad de huevos entre especies vegetales, principalmente de aquellas que pertenecen a grupos botánicos diferentes, y así poder conocer si la hembra tiene preferencia por oviponer en una de ellas. En esta tesis, los experimentos se diseñaron estableciendo unidades experimentales con igual área foliar en los distintos tratamientos. Pocos estudios, referidos a la capacidad selectiva del sitio de oviposición, tuvieron en cuenta un diseño de la arena experimental estableciendo áreas foliares equivalentes (Goane *et al.*, 2008; Mphosi & Foster, 2010; Videla *et al.*, 2012). Con esta precaución, cabe descartar que se haya enmascarado la manifestación del comportamiento selectivo de la hembra.

Si bien en los resultados de la presente tesis fue clara la preferencia de *R. nu* por las hojas de girasol como sustrato de oviposición, en las pruebas de libre elección la diferencia en la densidad de huevos.cm⁻² entre cultivos fue menor que la diferencia hallada en las pruebas de no elección. En el primer caso la chance de que la hembra desove en girasol respecto de soja fue de 3,7 mientras que, cuando ambos cultivos se evaluaron en forma separada (Prueba de no elección) la probabilidad de desovar en girasol respecto de soja fue de 8,4 superior. Estos resultados se contraponen a lo esperado, ya que si una hembra no tiene la oportunidad de optar por un determinado hospedante, de todos modos dejaría sus huevos, o en todo caso, la diferencia en la densidad de oviposiciones en girasol y en soja debería ser menor. Greenberg *et al.* (2002) explican esta situación manifestando que el comportamiento de la hembra es dependiente del contexto y que las señales emitidas por el hospedante preferido podrían estimular el desove en el hospedante menos atractivo. La naturaleza de las señales provenientes de las plantas de soja y de girasol registradas por *R. nu* son desconocidas pero al igual que en los insectos en general, podrían ser químicas, táctiles, visuales, sonoras o alguna combinación de ellas (Visser, 1986; Chapman, 1998; Greenberg *et al.*, 2002). Por ejemplo, en el caso de la hembra de *Homoesoma electellum* (Hulst) (Lepidoptera: Pyralidae) se estudió que estímulos químicos no

volátiles, contenidos en el polen de las flores de girasol (Delisle *et al.*, 1989), y señales táctiles, dado que la misma inserta los huevos dentro del capítulo (Charlet *et al.*, 1997), mediarían en el proceso de oviposición (Mphosi & Foster, 2010). La mayor densidad de huevos.cm⁻² registrada en los folíolos de soja en la prueba de selección en comparación con la hallada en el test de no selección, podría deberse más a las señales químicas volátiles emitidas por las hojas de girasol que a señales táctiles, tal como sucede en la discriminación de plantas hospedantes por las hembras de *S. exigua* (Greenberg *et al.*, 2002), aunque se requieren estudios específicos acerca de los mecanismos sensoriales que efectivamente intervienen en la selección del sitio de oviposición de *R. nu*. Ramaswamy (1988) sugiere que los lepidópteros generalistas, no dependen de estímulos olfativos para aceptar a su hospedante, sino que son los estímulos químicos que se perciben por contacto (quimiorrecepción de contacto), a través de los receptores llamados sensilios gustativos, los responsables de la aceptación del hospedante. Los receptores químicos se hallan distribuidos en diferentes partes del cuerpo del insecto, pero son particularmente abundantes en las antenas, piezas bucales, patas (tarsos) y oviposidores. En pruebas de preferencia de oviposición de hembras de *Trichoplusia ni* (Hübner), especie de la misma Subfamilia de *R. nu* (Plusiinae), se determinó que estímulos gustativos, táctiles y visuales podrían contribuir en las diferencias en la proporción de huevos hallados en los hospedantes evaluados (soja y algodón) (Jost & Pitre, 2002). Asimismo, en otras especies de lepidópteros tales como *Chilo partellus* Swinhoe (Crambidae) (Waladde *et al.*, 1985), *Heliothis virescens* (F.) (Noctuidae) (Ramaswamy *et al.*, 1987) y *S. frugiperda* (Noctuidae) (Rojas *et al.*, 2003) se comprobó el rol fundamental de los receptores de contacto en la selección del sitio de oviposición.

Se ha señalado que metabolitos primarios, resultantes de la actividad fotosintética de la planta, como los azúcares, intervienen en el comportamiento de oviposición en lepidópteros (Derridj *et al.*, 1996; Schoonhoven *et al.*, 2005). Estos se hallan distribuidos tanto en la superficie de las hojas como en el interior de la planta y sus concentraciones varían considerablemente de acuerdo al estado de desarrollo, a la edad, a las condiciones fisiológicas y a factores ambientales (Schoonhoven *et al.*, 2005). En estudios realizados con *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) se demostró que el estado fenológico de distintas plantas (*Zea mays* L., *Helianthus annuus* L., *Phaseolus vulgaris* L.) fue más importante en la preferencia de oviposición del insecto que la especie vegetal *per se* y que dicha preferencia se correlacionó con las cantidades diferentes de fructuosa, halladas en la superficie de las hojas (filoplano) (Derridj *et al.*, 1989). Asimismo, Metspalu *et al.* (2009) destacaron que el factor más

importante en la selección del sitio de oviposición de *Pieris brassicae* (L.) (Lepidoptera: Pieridae) es la edad fisiológica de la planta y secundariamente los metabolitos presentes. Además la hembra selecciona aquel sustrato con mayor contenido de glucosinolatos (Jankowska, 2006), los que a su vez varían entre cultivos del género *Brassica*, concentrándose en las plantas jóvenes y declinando con la edad del cultivo (Rahman *et al.* 1986).

En los ensayos de elección del sitio de oviposición, la cantidad de huevos por área foliar depositados por *R. nu*, en folíolos de soja y en hojas de girasol con estrés hídrico fue entre 2 y 3 veces inferior, respectivamente, en comparación con los tratamientos sin estrés hídrico. Esta situación refleja la preferencia de la hembra adulta por desovar en hojas sin este tipo de estrés abiótico, independientemente del cultivo. Resultados similares se obtuvieron cuando se estudió el comportamiento de oviposición de *S. exigua*. Las hembras de esta especie colocaron un 82% más de huevos en plantas de *Amaranthus palmeri* sin estrés hídrico. Las mariposas de la Familia Noctuidae pueden detectar variaciones en las concentraciones de carbohidratos, aminoácidos libres y de otros compuestos pero la hembra de *S. exigua* no responde positivamente al incremento de nutrientes en plantas de *A. palmeri*. Se sugirió que señales táctiles emitidas por plantas estresadas podrían desalentar la oviposición de *S. exigua* (Moran & Showler, 2005).

Gutbrodt *et al.* (2011) manifiestan que las plantas con estrés hídrico impactan en el comportamiento selectivo de los herbívoros de acuerdo a la intensidad en que se manifieste dicho estrés. Por ejemplo, *S. exigua* colocó entre 2 y 5 veces más huevos en plantas de algodón con diferente régimen de déficit hídrico (19, 25 y 38% del total de agua recibida por las plantas sin estrés). Esta preferencia se relacionó con la mayor disponibilidad de carbohidratos y con los niveles más elevados de aminoácidos libres en las plantas estresadas (Showler & Moran, 2003). Similar situación se observó cuando se estudió la preferencia de oviposición de *Eoreuma loftini* (Dyar) (Lepidoptera: Crambidae) en plantas de caña de azúcar con estrés hídrico. En esta investigación, la mayor proporción de huevos depositados en plantas estresadas se relacionó con la mayor concentración de los 16 aminoácidos libres detectados (Showler & Castro, 2010). Se conoce que el estrés moderado incrementa el valor nutricional de jugos y tejidos de ciertas plantas y reduce la concentración de metabolitos de defensa, mientras que cuando el estrés es severo declina la utilización de la planta hospedante por el insecto, debido a la escasa disponibilidad de agua para el herbívoro y a la presencia de tejido foliar senescente (Showler, 2013). Este último tipo de estrés explicaría la razón por la cual, en el ensayo de elección del sitio de oviposición de esta

tesis, las hembras colocaron un número menor de huevos en las hojas de los cultivos con marchitez pronunciada. Cabe destacar que previo al inicio del experimento dichas hojas permanecieron por 24 h sin suministro de agua y durante el ensayo tampoco fueron hidratadas, lo que condujo a un estado de marchitez o desecación pronunciado (Figura 3.8 B y C). La hipótesis de *planta estresada* propuesta por White (1969) predice que las plantas bajo estrés son más susceptibles al daño por los herbívoros ya que prefieren y se desempeñan mejor en ellas, como consecuencia del incremento en los compuestos nitrogenados. Larsson (1989) sugirió que ciertos gremios de especies fitófagas se desempeñan mejor en plantas estresadas (p. ej. insectos xilófagos, succionadores, minadores), mientras que otros lo hacen en plantas con crecimiento vigoroso (p. ej. folívoros e insectos formadores de agallas). De acuerdo a esta clasificación, los insectos que se alimentan de hojas como *R. nu*, seleccionarían aquellos hospedantes que no presenten estrés, debido a su dificultad para separar las fracciones químicas del alimento (p. ej. compuestos defensivos) (Galway *et al.*, 2004). Entonces, en términos de selección, el comportamiento de *R. nu* se enmarcaría en la hipótesis de *planta vigorosa* (Price, 1991). Sin embargo, Chidawanyika *et al.* (2014) mencionan que la respuesta de los herbívoros a plantas con estrés hídrico depende de la especie vegetal y que dicho estrés puede modificar el ranking de preferencia y aceptación del hospedante. Los resultados de sus investigaciones demostraron que las hembras de *C. partellus* prefieren colocar los huevos en plantas de maíz con déficit hídrico mientras que en otras poáceas con estrés tales como *Pennisetum purpureum* y *Brachiaria brizantha* la densidad de oviposuras fue menor en comparación con plantas no estresadas. Considerando estos antecedentes, a pesar de que *R. nu* mostró tanto con girasol como con soja una respuesta al estrés hídrico consistente con la hipótesis de *planta vigorosa*, cabe pensar que con otras especies hospedadoras este patrón pueda cambiar.

2. DESEMPEÑO DE LA DESCENDENCIA

La selección del hospedante constituye uno de los ejes centrales en el estudio de las interacciones planta-insecto herbívoro (Joachim-Bravo & Zucoloto, 1997). Un punto que genera controversia es si la hembra es capaz de seleccionar aquel hospedante que garantice el óptimo desempeño de la descendencia (Thompson, 1988; Craig *et al.*, 1989). Comúnmente se utilizan un conjunto de variables para estudiar el desempeño de la progenie, tales como (i) tasa de supervivencia de estados inmaduros y adultos; (ii) duración del periodo larval; (iii) peso pupal (p. ej. Azerefegne & Solbreck, 2010;

Mphosi & Foster, 2010; Videla *et al.*, 2012; Gómez Jiménez *et al.*, 2014; Marchioro & Foerster, 2014).

En la presente tesis, para evaluar el desempeño de la descendencia se tomó la duración de tres periodos de desarrollo de *R. nu*, el peso de las pupas según el sexo y la supervivencia, en relación al tipo de alimento ingerido durante la etapa larval. En referencia a la tasa de desarrollo, se discriminó por etapas ya que se consideró que el sustrato alimenticio podría tener mayor incidencia en la duración de un determinado periodo de desarrollo. Panizzi *et al.* (2004) observaron que la fuente de alimento afectó la duración del periodo larval de *Anticarsia gemmatilis*. Cuando las larvas consumieron soja y guandú (*Cajanus cajan*) se desarrollaron más rápidamente que cuando se alimentaron de otra fabácea como la crotalaria (*Crotalaria juncea*), pero no se registraron diferencias estadísticas significativas en la duración del periodo pupal. A pesar de ello, la disminución en la duración del estado de pupa no alcanzó a compensar los días requeridos para alcanzar el estado adulto e igualar el desempeño de larvas alimentadas con soja y guandú. El desempeño de las larvas de *R. nu*, tanto en términos de tasa de desarrollo como peso pupal alcanzado fue mejor, en los tres periodos evaluados, cuando utilizaron como fuente alimenticia hojas de girasol en lugar de folíolos de soja. El efecto del tipo de alimento ingerido por las larvas sobre determinados parámetros biológicos y reproductivos se observó también en otras especies de lepidópteros (Noctuidae, Erebidae) de importancia económica, tales como, *Heliothis virescens* y *Chrysodeixis includens* (Portillo & Pitri, 1992), *Anticarsia gemmatilis* (Panizzi *et al.*, 2004; Bortoli *et al.*, 2005), *S. frugiperda* (Barros *et al.*, 2010), *Helicoverpa armigera* (Dhandapani & Balasubramanian, 1980; Mojeni, 2008; Naseri *et al.*, 2011; Hemati *et al.*, 2013). Diferencias en la calidad de distintos sustratos (variedades, híbridos, cultivos) pueden ocasionar variaciones en las tasas de desarrollo y en el peso pupal de los insectos plaga que se alimentan de ellos (Naseri *et al.*, 2011). Por ejemplo, determinadas variedades de soja no son hospedantes adecuados de *H. armigera* debido a la presencia de algunos fitoquímicos que actúan como agentes antixenóticos y/o antibióticos o bien por la ausencia de nutrientes primarios esenciales para el desarrollo de esta especie (Naseri *et al.*, 2009).

Se ha demostrado que el peso pupal es un buen estimador de la fecundidad a partir de las relaciones significativas encontradas entre el peso de las pupas y la fecundidad de las hembras de varias familias de lepidópteros (p. ej. Gelechiidae, Nymphalidae, Noctuidea, Pyralidae, Plutellidae) (Pereyra, 2002; Syed & Abro, 2003; Azerefegne & Solbreck, 2010; Singh *et al.*, 2011), aunque dichas relaciones están condicionadas por el tipo de alimento consumido en los estados inmaduros

(Greenberg *et al.*, 2001; Azidah & Sofian-Azirum, 2006). De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente tesis, las hembras de *R. nu* provenientes de una alimentación basada en hojas de girasol tendrían un mejor desempeño en términos de fecundidad, en comparación con aquellas cuyas larvas se alimentaron con folíolos de soja. Azidah & Sofian-Azirum (2006) obtuvieron regresiones lineales entre el peso de las pupas y el número de huevos depositados por las hembras de *S. exigua*, en función del alimento consumido, encontrando que el peso de las pupas influyó considerablemente en la fecundidad de la hembra de esta especie de Lepidoptera. Si se toma como punto de referencia y solo como una aproximación, la regresión entre el peso de las pupas y la fertilidad de *S. exigua* cuando las larvas se alimentaron de repollo *Brassica oleracea* var. *capitata* y se reemplaza en la ecuación por los pesos pupales obtenidos en la tesis, una diferencia promedio de 17% en el peso de las pupas de *R. nu* criadas con dos sustratos alimenticios distintos (girasol y soja), y en condiciones similares al experimento realizado con *S. exigua*, arrojaría una diferencia entre 9 y 24% en la fecundidad.

El peso de las pupas, cuando las larvas se alimentaron de folíolos de soja, fue mayor al rango de pesos que Perotti (2010) obtuvo empleando el mismo alimento. Esto podría tener dos explicaciones: (i) las pupas fueron pesadas a los 5 días de iniciado el estado, mientras que en el presente ensayo el pesaje se realizó entre los 2 y 3 días. Reid & Greene (1973) observaron que a medida que transcurre el periodo pupal se produce una pérdida de peso, siendo más acentuada cuando las pupas se criaron en recipientes, en los que no se les adicionó papel de filtro húmedo; (ii) los folíolos de soja suministrados a las larvas provenían de plantas que se encontraban en estado vegetativo, en cambio Perotti (2010) utilizó, como sustrato de alimentación, hojas de soja en estado fenológico de R5 (una semilla de al menos 3 mm de diámetro en una vaina situada en alguno de los cuatro últimos nudos del tallo principal que tenga una hoja totalmente desarrollada; Fehr y Caviness, 1971). La calidad nutricional de la hoja se modifica con la edad de la planta, disminuyendo el contenido de agua e incrementando el de fibras, por lo que las larvas que se alimentan de hojas jóvenes aumentan su peso y consecuentemente alcanzan pesos pupales más elevados (Dodds *et al.*, 1996; Millán *et al.*, 2010). Existen antecedentes que demuestran una fuerte relación lineal entre el consumo de tejido foliar y el peso pupal (Greenberg *et al.*, 2001). Estos autores encontraron que las larvas de *S. exigua* alimentadas con *Amaranthus retroflexus* presentaron la mayor ganancia de peso pupal por unidad de dieta consumida, cuando se la comparó con otras especies hospedantes.

Panizzi *et al.* (2004) encontraron una gran variabilidad en el desempeño de *A. gemmatalis* de acuerdo al tipo de alimento ingerido y mencionaron que dicha variabilidad fue pronunciada cuando se comparó el desempeño de las larvas entre especies de fabáceas dentro del mismo género. Así, el tiempo de desarrollo desde larva hasta la emergencia del adulto fue más breve sobre *Lupinus albus* (Fabaceae) en comparación con *L. sativus* y *L. angustifolius*. Además las pupas fueron más pesadas cuando las larvas se alimentaron de hojas de lupino blanco (aproximadamente 253 mg) que cuando se alimentaron de las otras dos especies vegetales (191 y 128 mg respectivamente).

Por último, no se detectaron diferencias significativas en la supervivencia de los individuos que consumieron girasol o soja. Nylin *et al.* (1996) manifiestan la relevancia de evaluar varios aspectos del desempeño a fin de evitar conclusiones erróneas. En condiciones de campo, otros factores biológicos pueden jugar un rol importante en la supervivencia larval, tales como predadores y parasitoides (Jallow & Zalucki, 2003).

3. PREFERENCIA DE OVIPOSICIÓN-DESEMPEÑO DE LAS LARVAS

En condiciones semicontroladas, se determinó que las hembras de *R. nu* prefieren oviponer en hojas de girasol y que a su vez las tasas de desarrollo larval y pupal y el peso de las pupas cuando los estados inmaduros consumen dicho cultivo son superiores a las tasas y pesos alcanzados cuando las larvas se alimentan de folíolos de soja. Por lo tanto, los resultados obtenidos coinciden con las predicciones de la teoría de preferencia de oviposición-desempeño de los descendientes (Jaenike, 1978), en términos de tasa de desarrollo y peso pupal.

No obstante ello, si bien los resultados de las pruebas de elección y no elección en condiciones semicontroladas respaldan la teoría de oviposición óptima, en condiciones de campo, tal como se detalló en el capítulo II, las densidades de huevos de *R. nu* por área foliar de girasol y soja no fueron estadísticamente diferentes. En las pruebas de elección, tal vez, la densidad de huevos en girasol hubiera sido mayor a la registrada, si se hubieran considerado plantas intactas en lugar de hojas. Mphosi & Foster (2010) manifiestan que esto podría ser un problema potencial en los experimentos de preferencia de oviposición, fundamentalmente si se tiene en cuenta que en Lepidoptera, la selección del sitio de oviposición, está determinada por señales de naturaleza química (Renwick, 1989). Se conoce que la herbivoría o los daños mecánicos producidos en las plantas alteran la emisión de sustancias volátiles (Mithöfer *et al.*, 2005). Por ejemplo, *Heliothis virescens* (De Moraes *et al.*, 2001) y *S.*

frugiperda (Téllez-Rodríguez *et al.*, 2014) evitan desovar en plantas dañadas por larvas conespecíficas. Por lo tanto el daño producido al cortar, mediante una tijera, las hojas de las plantas hospedantes podría modificar el comportamiento de las hembras de *R. nu*. En futuras investigaciones se debería establecer si el corte mecánico de las hojas afecta la capacidad selectiva, en base a la comparación en la densidad de huevos.cm⁻² colocados en las hojas de plantas intactas de girasol y soja.

Como se mencionó en la introducción del presente capítulo, sólo para algunas especies de insectos se observó una correlación positiva entre preferencia (P) y desempeño (D) (p. ej. Nylin & Janz, 1993; Stavridis & Savopoulou-Soultani, 1998; Bittencourt-Rodrigues & Zucoloto, 2005; Azerefegne & Solbreck, 2010), mientras que para muchas otras, dicha correlación fue pobre o inexistente (p. ej. Valladares & Lawton, 1991; Bravo & Zucoloto, 1997; Ladner & Altizer, 2005; Goane *et al.*, 2008; Sadek *et al.*, 2010). Una relación clara entre P y D es más probable que tenga lugar en insectos con estados larvales sésiles, tales como minadores de hoja o formadores de galerías, donde la progenie está confinada a desarrollarse en la misma hoja seleccionada por la hembra (Mopper, 1996).

CAPÍTULO IV



Efecto de la dieta de las hembras de *Rachiplusia nu* sobre el desempeño de su descendencia

CAPÍTULO IV

Efecto de la dieta de las hembras de *Rachiplusia nu* sobre el desempeño de su descendencia

INTRODUCCIÓN

El valor nutricional de las plantas hospedantes tiene efectos profundos en la ecología, el comportamiento y la fisiología de los herbívoros y está determinada por múltiples características tales como la cantidad y calidad de nutrientes, la dureza de las hojas, el contenido de agua y de metabolitos secundarios (Bernays & Chapman, 1994; Schoonhoven *et al.*, 1998). Las plantas contienen todos los nutrientes que los insectos fitófagos requieren, pero las cantidades absolutas y las proporciones de ellos varían considerablemente (Bernays & Chapman, 1994, Slansky & Rodriguez, 1987; Schoonhoven *et al.*, 2005). Dicha variación es más notable entre especies distintas de plantas, aunque también ocurre entre plantas de una misma especie, como resultado de diferencias fenotípicas y de condiciones ambientales (p. ej. nutrientes del suelo, luz y niveles de agua) o dentro de una misma planta (p. ej. hojas jóvenes versus hojas maduras) (Behmer, 2009). Muchas de las sustancias que los insectos necesitan para sus funciones vitales son incorporadas durante la alimentación y otras son sintetizadas por el propio organismo (Chapman, 1998). Los artrópodos fitófagos generalmente necesitan cantidades casi iguales de proteínas, lípidos e hidratos de carbono. Los requerimientos nutricionales pueden variar en el tiempo, dependiendo del destino del alimento, es decir, si el insecto lo necesita para crecer, reproducirse, entrar en diapausa o bien migrar. En las etapas avanzadas del desarrollo larval los lípidos son altamente demandados para la supervivencia, reproducción y desarrollo (Nation, 2001; Genç, 2006), mientras que las proteínas son fuentes de nitrógeno para el crecimiento y el mantenimiento de los tejidos (Lee, 2007), para la producción de enzimas, para transporte y almacenamiento (Chapman, 1998). Los carbohidratos constituyen la principal fuente energética de los insectos, se utilizan para propósitos estructurales (deposición de la cutícula) y pueden ser convertidos en lípidos y aminoácidos no esenciales (O'Brien *et al.*, 2002).

Tanto los insectos herbívoros generalistas como los especialistas se desarrollan en ambientes nutricionalmente heterogéneos, por lo que la selección

natural debería favorecer a aquellos que puedan regular la ingesta de sustancias requeridas en las distintas etapas de su ciclo de vida (Behmer, 2009). Frente a dietas desbalanceadas los insectos responden de tres formas para compensar las deficiencias nutricionales: a) ingerir más alimento; b) absorber y utilizar el alimento ingerido con mayor eficiencia; c) seleccionar fuentes de nutrientes alternativas (Scriber & Slansky, 1981; Simpson & Abisgold, 1985).

Las larvas folívoras de lepidópteros tienen más dificultades para obtener proteínas que los insectos que pertenecen a otros gremios, como los succionadores de semillas, a causa de las bajas concentraciones de esos nutrientes, particularmente el nitrógeno, en las estructuras no reproductivas de las plantas (Southwood, 1978; Whitman *et al.*, 1994). No obstante, se conoce que ciertas especies de bacterias endosimbiontes presentes en el intestino de los lepidópteros, cubrirían determinados requerimientos nutricionales proveyendo de compuestos nitrogenados esenciales, compensando la ingesta de dietas desbalanceadas (Indiragandhi *et al.*, 2008; McCarthy *et al.*, 2015; Paniagua Voirol *et al.*, 2018). Bajas cantidades de proteínas en los estadios iniciales de desarrollo pueden reducir la capacidad para transformar nutrientes en tejidos (Woods, 1999). Las larvas en sus primeras etapas de vida tienen mayores tasas de metabolismo, de crecimiento relativo, de consumo de alimento y mayor eficiencia de asimilación que en las etapas finales, aunque la eficiencia de conversión del alimento digerido es menor, razón por la cual las hace más selectivas (Dix *et al.*, 1996).

La calidad de una planta hospedante se define como el conjunto de componentes (p. ej. niveles de nitrógeno, carbono, elementos traza y compuestos defensivos) que afectan positiva o negativamente el desempeño y la fertilidad de los insectos herbívoros (Awmack & Leather, 2002). Dicha calidad varía dentro y entre plantas hospedantes y esas variaciones pueden ser predecibles como los cambios estacionales en la calidad de la planta (p. ej. en árboles jóvenes de hoja caduca el contenido de nitrógeno total es mayor que en árboles senescentes) o impredecibles debido a los cambios causados por un estrés ambiental (Awmack & Leather, 2002). La calidad del alimento se mide a través de la cantidad de agua, la presencia de aminoácidos, de fagoestimulantes y de toxinas o repelentes (Scriber & Slansky, 1981).

La calidad nutricional de una hoja cambia con la edad, generalmente con disminuciones del contenido de agua y de nitrógeno e incrementos del contenido de fibras y dureza de la misma (Feeny, 1970; Scriber & Slansky, 1981; Pereyra, 1994; Van Asch *et al.*, 2010). Los insectos herbívoros crecen más, tienen mayor tasa de supervivencia, y aumentan de peso cuando se alimentan de hojas más jóvenes

(Dodds *et al.*, 1996). Las larvas de lepidópteros generalmente mantienen un contenido de agua corporal de 85 a 92%, lo que explica la selección de dietas con elevados niveles hídricos (Scriber, 1977). En un estudio del efecto de la calidad de las hojas de soja sobre el crecimiento de larvas de *R. nu*, Pereyra (1994) encontró que las hojas provenientes de plantas en estado vegetativo (V7) del mes de diciembre presentaron un mayor contenido de agua que las del mes de febrero que se hallaban en estados vegetativos tardíos hasta reproductivos avanzados (V13-R4). Estas diferencias se asociaron a mayores tasas de crecimiento y de asimilación, menor duración del periodo larval, y mayor peso pupal (Pereyra, 1994). A estos efectos de la calidad de las hojas de una misma planta a lo largo de su desarrollo fenológico, se pueden sumar los cambios de requerimientos específicos a través del desarrollo de los estados inmaduros. Por ejemplo, estudios realizados con *Ascia monuste* Godart (Lepidoptera: Pieridae) sugieren que existe una diferenciación jerárquica en el grado de preferencia alimenticia de los individuos inmaduros. Las larvas de los dos primeros estadios prefieren hojas jóvenes, las del tercero muestran flexibilidad en el grado de preferencia y las del cuarto y quinto estadio no presentan preferencia según madurez de la hoja (Bittencourt-Rodrigues & Zucoloto, 2005). La debilidad de las mandíbulas de las larvas neonatas probablemente les dificulte alimentarse de las hojas más maduras (Gaston *et al.*, 1991).

Otras investigaciones demostraron que el envejecimiento de plantas de *Brassica oleraceae* var. capitata (“repollo”) provocó el aumento de la tasa de mortalidad preimaginal, y la disminución de la tasa de desarrollo, el peso de las pupas y la fecundidad de los adultos de *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Yponomeutidae), ya que las larvas del primer estadio de desarrollo tienen dificultades para penetrar el mesófilo, masticar y digerir las hojas fibrosas y duras de plantas maduras de repollo (Campos *et al.*, 2003).

Como se describió en párrafos anteriores, la calidad nutricional de la planta hospedante puede tener efectos profundos sobre el rendimiento reproductivo de los artrópodos. En consecuencia, la dieta de la madre (o del padre) también puede tener efectos sobre el desempeño de la siguiente generación (Kyne & Toft, 2006). A este fenómeno se lo conoce como “efectos maternos”, y se lo define como el efecto que el fenotipo o el ambiente de la madre tiene sobre el fenotipo de la descendencia, independientemente del genotipo de la progenie (Bernardo, 1996). Dicho efecto ocurre por medio de algún mecanismo distinto al de la transmisión de genes (Fox, 2000). El término “efectos maternos” se utiliza generalmente para hacer referencia a los

efectos parentales no-mendelianos, el que puede incluir contribuciones tanto del padre como de la madre (Hunter, 2002).

En insectos, los efectos maternos son diversos y complejos. Los mismos pueden influir, por ejemplo, en la incidencia e intensidad de la diapausa, en la producción de formas sexuales, en el polimorfismo alar (Mousseau & Dingle, 1991), en el comportamiento de dispersión (Campos *et al.*, 2004), en el tiempo de desarrollo, en la resistencia a químicos (Mousseau & Dingle, 1991) o enfermedades (Boots & Roberts, 2012), en la supervivencia, en la fecundidad (Ruiz-Montoya & Núñez-Farfán, 2009), en la adaptación a la fenología de la planta hospedante (Van Asch *et al.*, 2010), en la tolerancia a cultivos transgénicos (Carrière *et al.*, 2001). Los factores ambientales que normalmente se asocian al control maternal son fotoperiodo y temperatura. La edad de la madre (Hydorn & Whitcomb, 1972) y la dieta también tienen efectos importantes en el desempeño de la descendencia (Mousseau & Dingle, 1991; Jann & Ward, 1999).

Los efectos maternos también influyen en la dinámica poblacional de los insectos plaga de cultivos forestales y agrícolas (Myers *et al.*, 1998; Erelli & Elkinton, 2000; Benton *et al.*, 2001; Hunter, 2002; Benton *et al.*, 2005). Sobre la base del supuesto demográfico fundamental de que la abundancia poblacional está determinada por la natalidad, la mortalidad, la emigración y la inmigración, Zehnder (2006) consultó 50 revistas con la finalidad de identificar ejemplos de efectos maternos que directamente influyen en alguno de estos cuatro procesos. El 62% de los ejemplos contenían efectos maternos que afectaron la migración (inmigración + emigración) de la progenie, mediante la producción de formas de dispersión (p. ej. formas aladas). En lo referido a la mortalidad (33% de los trabajos), la disponibilidad y calidad de la dieta y la edad de la madre se identificaron como los factores más relevantes que influyeron en la tasa de supervivencia de la descendencia. Un menor número de trabajos (5% del total) se relacionaron con la natalidad de la progenie, por ejemplo, en *Lymantria dispar* (Linnaeus) (Lepidoptera: Lymantriidae), las larvas que emergían de huevos más grandes tenían mayor fecundidad que aquellas provenientes de huevos pequeños (Rossiter, 1991).

Efectos maternos de la dieta se han encontrado sobre diversos parámetros vitales de la descendencia, tales como, crecimiento (Gould, 1988; Rossiter, 1991), desarrollo (Rossiter, 1991, Rotem *et al.*, 2003), y supervivencia (Jørgensen & Toft, 1997; Bilde & Toft, 2000). Para los insectos herbívoros que utilizan recursos estacionales, las señales en el ambiente de la generación parental pueden indicar condiciones futuras, es decir que la variación en la calidad de la planta puede influir

tanto en la generación presente como en la futura (Hunter & Price, 1992; Underwood & Rausher, 2000).

Ruiz-Montoya & Núñez-Farfán (2009) manifiestan que los efectos maternos adquieren relevancia en los insectos fitófagos si más de una especie de planta hospedante se desarrolla dentro del mismo hábitat, situación frecuente en el ámbito regional ya que en Entre Ríos, existen establecimientos agrícolas que incluyen en su esquema de siembra a los cultivos puros de girasol y soja, ambas especies hospedantes de *R. nu*. El girasol se siembra en la provincia a partir de la segunda quincena del mes de agosto, por lo tanto, las primeras generaciones de la “oruga medidora” pueden desarrollarse en este cultivo, además de otros como alfalfa y lino. En el caso de la soja, su fecha óptima de siembra comprende el mes de noviembre, aunque también puede sembrarse en forma temprana en octubre. Como consecuencia de ello, *R. nu* dispone de recursos alimenticios por largos periodos de tiempo, lo que garantiza su permanencia en los agroecosistemas. En sistemas de intercultivo donde se combinan hileras de cultivos de girasol y soja, el desempeño sobre uno de los hospedantes puede ser afectado si la madre se desarrolló en el otro hospedante durante la generación previa (p. ej. efectos maternos) (Ruiz-Montoya & Núñez-Farfán, 2009). Por ello, el tipo de sistema de cultivo (puro versus intercultivo), la secuencia de siembra, la disposición espacial de las plantas y las características particulares de las variedades e híbridos pueden tener implicancias en la selección de la planta hospedante de la generación materna con el consecuente efecto en el desempeño de la descendencia. Además, se ha planteado una línea de argumentos teóricos que sostiene la necesidad de que insectos con un amplio rango de dieta, en condiciones naturales, balanceen la ingesta de nutrientes mediante la combinación de dos o más recursos o bien a través de la alternancia de fuentes de alimento de una a otra generación (Waldbauer & Friedman, 1991; Cohen, 2001; Cohen, 2003; Kyne & Toft, 2006; Lee *et al.*, 2006). Esto es posible en sistemas de cultivos secuenciados o en intercultivos, donde el insecto tiene la oportunidad de seleccionar la mejor combinación de nutrientes que requiere para cada etapa de su desarrollo.

En el contexto de los efectos de la dieta materna sobre el desempeño de la descendencia se propuso como hipótesis que el consumo de alimentos de menor calidad nutricional por parte de las larvas de la generación parental de *R. nu* influye negativamente en el desempeño de su progenie. Por lo que se predice que las larvas de la generación parental de *R. nu* que se alimenten de folíolos de soja darán origen a individuos con menor tasa de desarrollo y peso pupal.

Objetivo

Evaluar la incidencia de la dieta materna de *R. nu* sobre la tasa de desarrollo y el peso pupal de la descendencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. SUSTRATO VEGETAL

Con la finalidad de contar con material vegetal como sustrato de alimentación para la ejecución de los experimentos, se sembraron dos parcelas de cultivos de soja (variedad A 8000) y girasol (híbrido CL 46 K), de aproximadamente 0,5 ha cada una, el 5 de febrero de 2012. La densidad de siembra de los cultivos de soja y girasol fueron de 25 semillas.m⁻¹ y 4 semillas.m⁻¹, respectivamente.

Previo a la siembra y durante todo el ciclo de los cultivos se realizaron tareas de desmalezado químico, mecánico y manual, debido a la gran cantidad de malezas presentes en el lote experimental. En ningún momento del ciclo fenológico de los cultivos se aplicaron insecticidas.

2. MATERIAL BIOLÓGICO Y DESCRIPCIÓN DE LOS EXPERIMENTOS

El material biológico requerido para la realización de los experimentos se obtuvo de igual forma que la descrita en el capítulo III, sección 1.1.

Los adultos de *R. nu* capturados en una trampa de luz se acondicionaron en jaulas de cría, provistas de algodones con solución azucarada. Las larvas neonatas se criaron en dieta artificial, para estandarizar el efecto del alimento y evitar enmascarar los resultados de estos ensayos (Greenberg *et al.*, 2002; Panizzi *et al.*, 2004; Barros *et al.*, 2010), bajo condiciones controladas (26°C ± 5°C, 14:10-h luz: oscuridad).

El primer experimento se inició a partir de la inducción del desove de los adultos, dando comienzo a la primera generación. Las larvas recién emergidas se colocaron en recipientes plásticos individuales sobre hojas de girasol (n=65; E.F. V3-V4) o sobre folíolos de soja (n=65; E.F. V2-V3). Cuando las larvas comenzaron a formar el capullo se les retiró el alimento y se las acondicionó en recipientes, cuya base se tapizó con papel absorbente levemente humedecido. Las pupas se pesaron entre las 48 y 72 horas posteriores a su formación, mediante una balanza analítica Precisa® 40SM-200^a (0,0001 g).

En cada unidad experimental (una larva de *R. nu* en hojas de girasol o soja por recipiente) se registraron las siguientes variables:

- Duración del período larval (DPL)
- Duración del período pupal (DPP)
- Duración total (DPT)
- Peso fresco de las pupas (PFP)

- Supervivencia

Los adultos, cuyas larvas se alimentaron de soja o girasol, se ubicaron en jaulas de madera y *voile*, provistas con algodones embebidos en una solución azucarada, para inducir su reproducción. Se empleó una jaula por tratamiento (girasol, soja). Los huevos provenientes de cada uno de dichos tratamientos fueron acondicionados hasta su eclosión. Noventa larvas recién nacidas se transfirieron individualmente a las correspondientes cajas de cría.

El experimento para la segunda generación incluyó los siguientes cuatro tratamientos (Figura 4.1), determinados por el alimento provisto a las larvas neonatas de primera (LN1) y segunda generación (LN2):

1. LN2 desarrolladas sobre hojas de girasol provenientes de LN1 alimentados con hojas de girasol (girasol-girasol).
2. LN2 desarrolladas sobre folíolos de soja provenientes de LN1 alimentados con hojas de girasol (girasol-soja).
3. LN2 desarrolladas sobre folíolos de soja provenientes de LN1 alimentados con hojas de soja (soja-soja).
4. LN2 desarrolladas sobre hojas de girasol provenientes de LN1 alimentados con hojas de soja (soja-girasol).

Los estados de desarrollo de los cultivos fueron V9-V10 para girasol y V8-V9 para soja y se registraron las mismas variables que las descriptas para la generación anterior.

Diseño Experimental

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado. En el primer experimento se consideraron 2 tratamientos: (I) larvas desarrolladas sobre hojas de girasol y (II) larvas desarrolladas sobre folíolos de soja, con 65 réplicas por tratamiento. En el segundo experimento se incluyeron 4 tratamientos, descriptos anteriormente, y 90 réplicas por tratamiento.

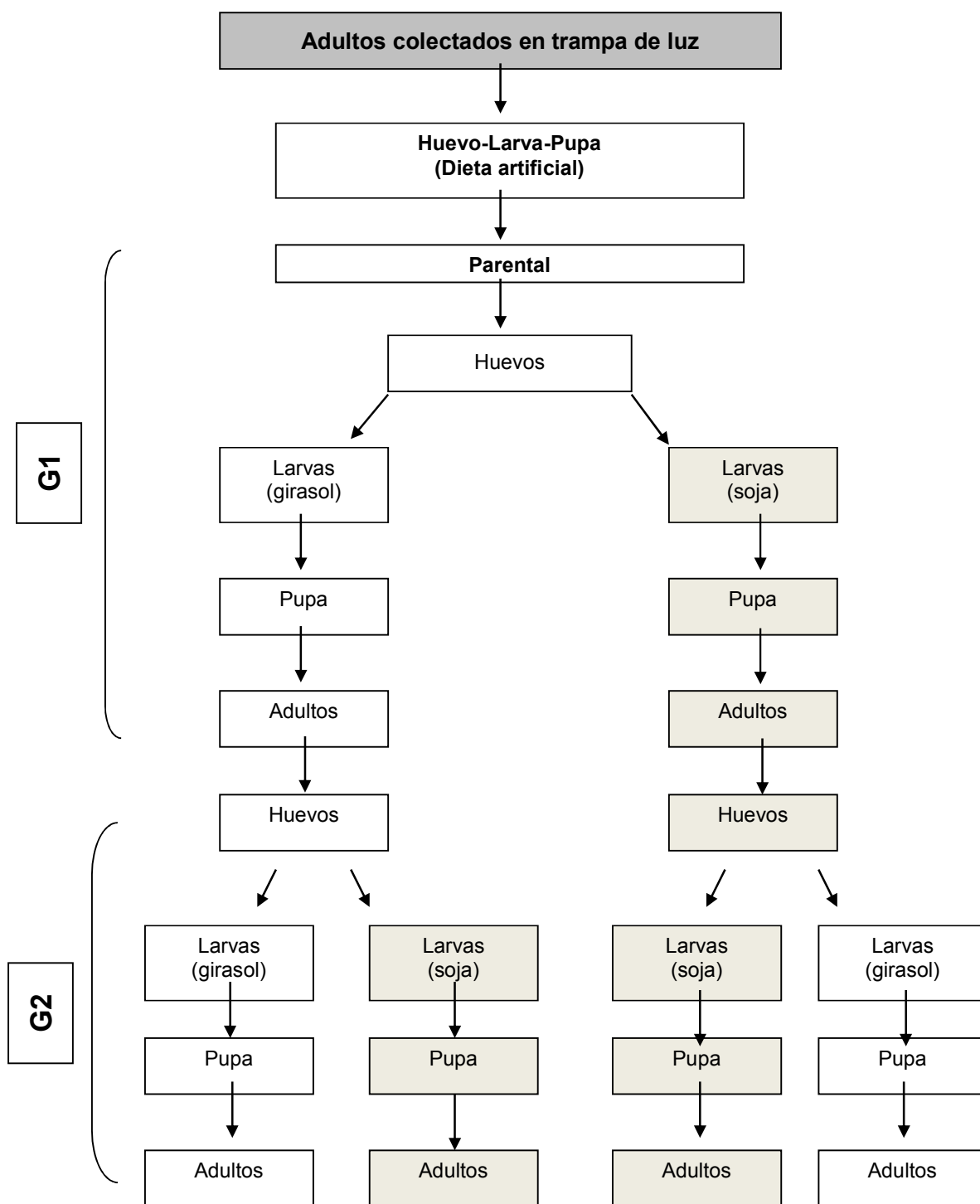


Figura 4.1. Esquema simplificado de los experimentos de efectos maternos.
G1: generación 1, parental y G2: generación 2, filial.

3. ANÁLISIS DE DATOS

3.1. TASA DE DESARROLLO

3.1.1. Experimento 1: Primera generación

La duración de los tres periodos de desarrollo (DPL, DPP y DPT) según el tipo de alimento consumido se expresó como tasa de desarrollo (DPL^{-1} , DPP^{-1} , DPT^{-1}). Los datos se analizaron, de acuerdo a un diseño completamente aleatorizado, mediante la Prueba de Mann Whitney (inferencia basada en dos muestras) utilizando el paquete estadístico InfoStat versión 2008 (Di Rienzo *et al.*, 2008).

3.1.2. Experimento 2: Segunda generación

Las tasas de desarrollo para cada tratamiento se analizaron mediante un análisis de varianza a través del procedimiento denominado Contraste de Rangos Alineados. Esta metodología consiste en una prueba no paramétrica (Mann y Whitney) que permite analizar diseños factoriales, considerando que los niveles del factor B se encuentran anidados bajo los niveles del factor A. En este estudio se consideró el factor B (cultivo 2: dieta de la descendencia) anidado dentro del factor A (cultivo 1: dieta parental) y los niveles de cada factor fueron girasol y soja. La prueba consiste en transformar los datos a rangos alineados para poder testear si existe o no interacción de los factores dado que la distribución de la variable no es normal (Payton *et al.*, 2006; Stavropoulos & Caroni, 2008; Wobbrock *et al.*, 2011). Se utilizó el procedimiento Mixed del paquete estadístico Statistical Analysis System, SAS (2004). Los valores medios transformados de las tasas de desarrollo de la segunda generación, cuando la generación parental consumió un mismo alimento, se compararon mediante el Test LSD ($\alpha=0,05$), considerándose los siguientes contrastes:

Contraste 1:

$$H0): \mu_{G(G)} = \mu_{S(G)}$$

$$H1): \mu_{G(G)} \neq \mu_{S(G)}$$

Donde,

μ = media de las tasas de desarrollo

$G_{(G)}$ = Dieta de la descendencia: Girasol anidado dentro de la dieta parental: Girasol

$S_{(G)}$ = Dieta de la descendencia: Soja anidado dentro de la dieta parental: Girasol

La hipótesis nula plantea que en el caso de los insectos cuyos padres en la etapa larval se alimentaron de girasol, las tasas de desarrollo DPL^{-1} , DPP^{-1} y DPT^{-1} de las

larvas de la descendencia que consumieron folíolos de soja fueron las mismas que las de las larvas que se alimentaron con girasol.

Contraste 2:

$$H_0): \mu_{G(S)} = \mu_{S(S)}$$

$$H_1): \mu_{G(S)} \neq \mu_{S(S)}$$

Donde,

μ = media de las tasas de desarrollo

$G_{(S)}$ = Dieta de la descendencia: Girasol anidado dentro de la dieta parental: Soja

$S_{(S)}$ = Dieta de la descendencia: Soja anidado dentro de la dieta parental: Soja

La hipótesis nula plantea que en el caso de los insectos cuyos padres en la etapa larval se alimentaron de soja, las tasas de desarrollo DPL^{-1} , DPP^{-1} y DPT^{-1} de las larvas de la descendencia que consumieron folíolos de soja fueron las mismas que las de las larvas que se alimentaron con girasol.

3.2 PESO FRESCO PUPAL

Los datos de los experimentos 1 (primera generación) y 2 (segunda generación) se analizaron mediante el modelo de ANAVA para diseños anidados, considerando dos factores (alimento y sexo), con dos niveles cada uno de ellos.

En la segunda generación, con la finalidad de analizar el efecto de la dieta parental sobre el peso pupal de la progenie (G2) se explicitaron dos contrastes:

Contraste 1:

$$H_0): \mu_{G(G)} = \mu_{S(G)}$$

$$H_1): \mu_{G(G)} \neq \mu_{S(G)}$$

Donde,

μ = media del peso pupal

$G_{(G)}$ = Dieta de la descendencia: Girasol anidado dentro de la dieta parental: Girasol

$S_{(G)}$ = Dieta de la descendencia: Soja anidado dentro de la dieta parental: Girasol

La hipótesis nula plantea que en el caso de los insectos cuyos progenitores en la etapa larval se alimentaron de girasol, el peso de las pupas de la G2, provenientes de larvas alimentadas con soja, es el mismo que el de larvas alimentadas con girasol.

Contraste 2:

$$H_0): \mu_{G(S)} = \mu_{S(S)}$$

$$H_1): \mu_{G(S)} \neq \mu_{S(S)}$$

Donde,

μ = media del peso pupal

$G_{(S)}$ = Dieta de la descendencia: Girasol anidado dentro de la dieta parental: Soja

$S_{(S)}$ = Dieta de la descendencia: Soja anidado dentro de la dieta parental: Soja

La hipótesis nula plantea que en el caso de los insectos cuyos progenitores en la etapa larval se alimentaron de soja, el peso de las pupas de la G2, provenientes de larvas alimentadas con soja, es el mismo que el de larvas alimentadas con girasol.

3.3 SUPERVIVENCIA

3.3.1 PRIMERA GENERACIÓN

En la generación parental se registró el número de individuos (larvas + pupas) que alcanzaron el estado adulto (vivos) y los que no sobrevivieron (muertos), cuyas larvas se alimentaron de girasol o soja. A fin de determinar si la proporción de individuos vivos y muertos, en relación al alimento consumido en la etapa larval, era la misma se realizó la Prueba Chi Cuadrado de Homogeneidad ($\alpha = 0.05$), utilizando el paquete estadístico InfoStat versión 2017 (Di Rienzo *et al.*, 2017).

Las hipótesis planteadas fueron:

$$H_0) p_{VG} = p_{VS}$$

$$H_1) p_{VG} \neq p_{VS}$$

Donde p_{VG} y p_{VS} , corresponden a la proporción de individuos vivos que consumieron girasol y soja respectivamente

3.3.2 SEGUNDA GENERACIÓN

En la generación filial se registró, también, el número de individuos (larvas + pupas) que alcanzaron el estado adulto (vivos) y los que no sobrevivieron (muertos), cuyas larvas se alimentaron de girasol o soja, provenientes de progenitores que consumieron girasol o soja, en la etapa larval. Los datos se analizaron mediante la Prueba de Cochran-Mantel-Haenszel, la que permitió contemplar el posible efecto sobre la relación entre las variables estado (vivo o muerto) y el tipo de alimento consumido por las larvas de la generación filial, de una tercera variable: la dieta consumida por los padres, siendo este último el factor de estratificación ($\alpha = 0,05$). La Prueba de Cochran-Mantel-Haenszel consiste en un contraste de hipótesis cuya finalidad es testear la

igualdad de las razones de Odds entre k tablas de contingencia 2×2 , teniendo en cuenta el factor de estratificación. Para este análisis se utilizó el paquete estadístico InfoStat versión 2017 (Di Rienzo *et al.*, 2017).

RESULTADOS

1. TASA DE DESARROLLO

1.1. PRIMERA GENERACIÓN (G1)

En la primera generación, el alimento (soja o girasol) incidió significativamente sobre la tasa de desarrollo larval ($W=1538,0$; $p<0,0001$). Las larvas que consumieron hojas de girasol desde que emergieron del huevo, alcanzaron el estado de prepupa en un menor número de días en comparación con aquellas que se desarrollaron sobre folíolos de soja. La tasa de desarrollo en el periodo prepupa-adulto no difirió significativamente entre los sustratos de alimentación ($W=2395,0$; $p=0,0902$). En promedio, los adultos cuyas larvas se alimentaron de girasol requirieron 8,4 días para llegar al estado de imago y 8,8 días cuando la dieta se basó en folíolos de soja. Se detectaron diferencias significativas cuando se analizó la tasa de desarrollo en el periodo larva neonata-adulto ($W=1633,5$; $p<0,0001$). Los individuos alimentados con hojas de girasol requirieron 3,5 días menos para alcanzar el estado de adulto, que aquellos que se alimentaron de folíolos de soja (Tabla 4.1).

Tabla 4.1. Tasa de desarrollo (día^{-1}) (media \pm E.E.) de la primera generación de *R. nu* correspondiente a distintas etapas de desarrollo de acuerdo al alimento consumido en el periodo larval.

Alimento	Etapas de desarrollo		
	Larval	Pupal	Total
Girasol	$0,079 \pm 0,001^*$	$0,122 \pm 0,002$	$0,047 \pm 0,001^*$
Soja	$0,063 \pm 0,001^*$	$0,117 \pm 0,003$	$0,041 \pm 0,001^*$

*Diferencias significativas al 5%.

1.2. SEGUNDA GENERACIÓN (G2)

La tasa de desarrollo de las larvas de la generación filial (G2) que consumieron hojas de girasol, provenientes de progenitores alimentados con girasol, fue un 13% superior a la tasa registrada para aquellos individuos que se alimentaron de folíolos de soja. La tasa de desarrollo de las larvas de la G2 que consumieron hojas de girasol, cuyos progenitores se alimentaron de folíolos de soja, fue un 15% superior en relación a las que se alimentaron de soja en ambas generaciones. En la combinación de alimentos soja-soja la tasa de desarrollo de las larvas fue ligeramente superior que en la relación girasol-soja (Tabla 4.2).

La tasa de desarrollo de las pupas, cuyas larvas se alimentaron de folíolos de soja, provenientes de progenitores desarrollados en hojas de girasol fue un 13% superior a la tasa registrada para las pupas que se alimentaron con girasol en la generación filial. Cuando los progenitores se alimentaron de folíolos de soja, la tasa de desarrollo de las pupas de girasol de la generación filial fue ligeramente superior (0,9%) a la tasa de desarrollo de las pupas provenientes de larvas que consumieron soja (Tabla 4.2).

La tasa de desarrollo total en el caso de las larvas que se alimentaron con girasol en la G2, provenientes de progenitores que consumieron el mismo alimento fue un 3% superior a la tasa de desarrollo total de aquellas larvas que en la generación filial consumieron folíolos de soja. Las diferencias entre tasas fueron más acentuadas cuando los progenitores se desarrollaron sobre folíolos de soja, es decir, la tasa de desarrollo total fue un 10% superior cuando las larvas de la segunda generación consumieron girasol en relación a aquellas cuya dieta se basó en folíolos de soja (Tabla 4.2).

Tabla 4.2. Tasa de desarrollo (día^{-1}) (media \pm E.E.) de la segunda generación de *R. nu* correspondiente a distintas etapas de desarrollo de acuerdo al alimento.

Etapas de desarrollo	Cultivo 1	Cultivo 2	Tasa de desarrollo* (día^{-1}) (media \pm E.E.)
Larval	Girasol	Girasol	$0,062 \pm 0,001$
		Soja	$0,054 \pm 0,001$
	Soja	Girasol	$0,065 \pm 0,001$
		Soja	$0,055 \pm 0,001$
Pupal	Girasol	Girasol	$0,097 \pm 0,002$
		Soja	$0,111 \pm 0,003$
	Soja	Girasol	$0,110 \pm 0,003$
		Soja	$0,109 \pm 0,002$
Total	Girasol	Girasol	$0,037 \pm < 0,001$
		Soja	$0,036 \pm < 0,001$
	Soja	Girasol	$0,040 \pm < 0,001$
		Soja	$0,036 \pm < 0,001$

* Variable original (sin transformar a rangos alineados).

Cultivo 1: Dieta parental (girasol o soja)

Cultivo 2: Dieta de la progenie (girasol o soja)

Al analizar los resultados mediante un análisis de varianza, luego de transformar la variable a rangos alineados, considerando que la dieta de la descendencia se encuentra anidada dentro de la dieta parental, se observó que el alimento consumido por los progenitores, durante la etapa larval, tuvo un efecto significativo sobre las tasas de desarrollo de los periodos larval, pupal y total de su progenie. Además, dado un determinado alimento suministrado a los progenitores, el alimento proporcionado a las larvas de la progenie tuvo un efecto significativo sobre las tasas de desarrollo de las etapas larval, pupal y total (Tabla 4.3).

En la etapa larval, cuando progenitores y progenie consumieron el mismo alimento se observó que la tasa de desarrollo de las larvas de la generación filial fue diferente a la tasa de desarrollo larval cuando ambas generaciones se alimentaron de diferentes sustratos (Figura 4.2).

Cuando las larvas de la generación parental se alimentaron de hojas de girasol, el alimento consumido por la generación filial incidió significativamente sobre la tasa de desarrollo de las pupas, situación que no ocurrió cuando las larvas de la generación progenitora consumieron folíolos de soja. En este caso no se detectaron

diferencias significativas en las tasas de desarrollo de las pupas de la G2 alimentadas con hojas de girasol y folíolos de soja (Figura 4.2).

En lo referido a las tasas de desarrollo de larvas y pupas en conjunto (Periodo total) el alimento consumido por la generación filial incidió significativamente sobre éstas, cuando los progenitores se alimentaron de soja o girasol (Figura 4.2). Uniendo ambas tasas de desarrollo (larva + pupa), la tasa de desarrollo de las larvas, independientemente de la dieta suministrada a las larvas tanto de la generación parental como filial, condicionó el valor final obtenido en cada contraste.

Tabla 4.3. Análisis de la varianza con diseño anidado y contraste de rangos alineados, ilustrando el efecto de la dieta (girasol o soja) de larvas de *Rachiplusia nu* de dos generaciones sucesivas (Parental y Filial), sobre la tasa de desarrollo en tres diferentes etapas (larval, pupal, total).

Etapas de desarrollo	Factor	GL	F	P
Larval	Cultivo 1	1, 302	7,87	0,0054
	Cultivo 2 (Cultivo 1)	2, 302	55,34	< 0,0001
Pupal	Cultivo 1	1, 302	7,58	0,0063
	Cultivo 2 (Cultivo 1)	2, 302	8,26	0,0003
Total	Cultivo 1	1, 302	13,88	0,0002
	Cultivo 2 (Cultivo 1)	2, 302	39,67	< 0,0001

Cultivo 1: Dieta de la generación parental (G1) (girasol o soja)

Cultivo 2: Dieta de la generación filial (G2) (girasol o soja)

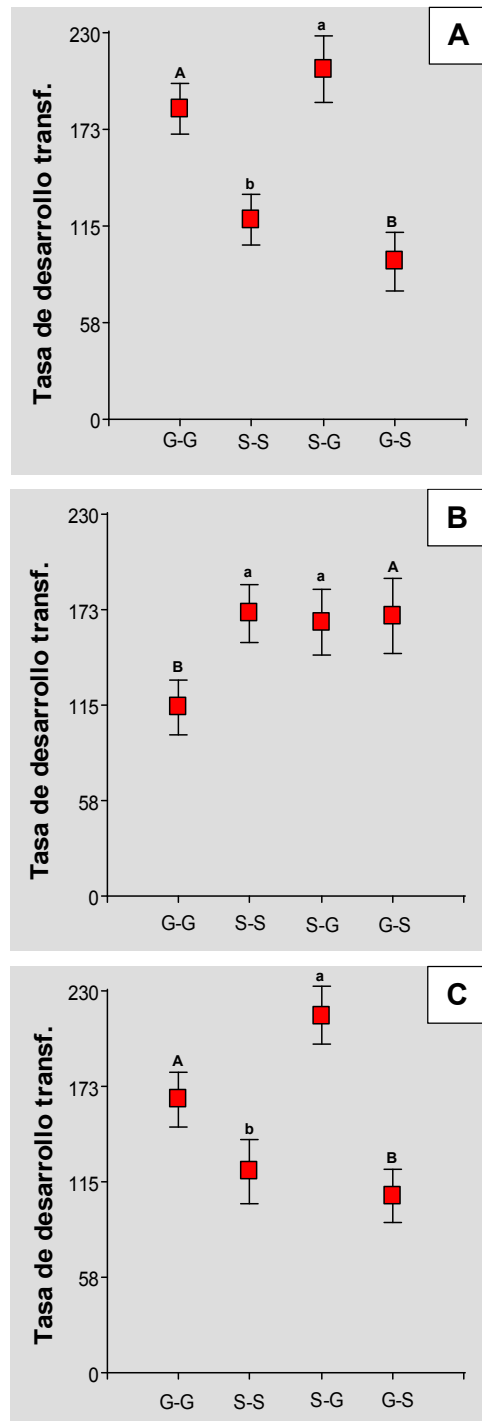


Figura 4.2. Tasas de desarrollo (variable transformada a rangos alineados) (media e intervalo de confianza) larval (A), pupal (B) y total (C) (larval + pupal) de la generación filial (G2) de acuerdo al alimento consumido. Letras mayúsculas corresponden al contraste 1 y letras minúsculas al contraste 2. Letras distintas (mayúsculas y minúsculas) indican diferencias significativas (LSD Fisher, $p < 0,05$).

2. PESO PUPAL

2.1. PRIMERA GENERACIÓN (G1)

El tipo de alimento consumido por las larvas incidió significativamente sobre el peso de las pupas ($F=18,64$; $p<0,001$), sin diferencias significativas entre los pesos pupales de machos y hembras, independientemente de la dieta ($F=1,23$; $p=0,298$) (Figura 4.3). Las pupas cuyas larvas se alimentaron de hojas de girasol pesaron 0,023 g más (10%) que las pupas provenientes de larvas que consumieron folíolos de soja.

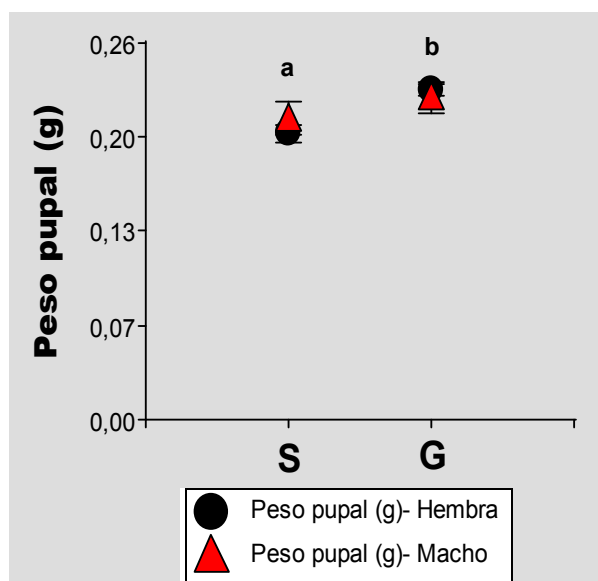


Figura 4.3. Peso de las pupas (g) de hembras y machos de la generación parental de acuerdo al alimento consumido en la etapa larval (media e intervalo de confianza). S: Soja; G: Girasol. Letras distintas indican diferencias significativas (LSD Fisher, $p<0,05$).

2.2. SEGUNDA GENERACIÓN (G2)

El alimento consumido por los progenitores tuvo un efecto significativo sobre el peso de las pupas de la descendencia ($F=54,4$; $p<0,0001$). Además, dado un determinado alimento suministrado a las larvas de la generación parental, la dieta proporcionada a la progenie tuvo un efecto significativo sobre el peso de las pupas ($F=139,6$; $p<0,0001$). El sexo no afectó el peso de las pupas de la progenie teniendo en cuenta el alimento consumido por los padres ($F=1,6$; $p=0,16$).

El peso de las pupas cuando las larvas de la segunda generación se alimentaron de girasol fue un 16% superior al peso de las pupas alimentadas con soja, ambas provenientes de progenitores que consumieron girasol. Al realizar el contraste 1 se detectaron diferencias significativas en los pesos de las pupas de la G2, cuyas larvas consumieron diferentes alimentos, provenientes de progenitores alimentados con hojas de girasol ($F=109,8$; $p<0,0001$). El contraste 2 indicó que cuando la dieta de la generación parental se basó en folíolos de soja, las pupas de la progenie cuyas larvas se alimentaron de girasol pesaron un 21% más que aquellas alimentadas con soja ($F=169,5$; $p<0,0001$). Las mayores diferencias en los pesos de las pupas ocurrieron cuando las larvas de ambas generaciones consumieron la misma dieta, alcanzándose el mayor peso en las alimentadas con girasol (0,236 g) y el menor peso pupal en aquellas larvas que se alimentaron con folíolos de soja (0,175 g) (Figura 4.4).

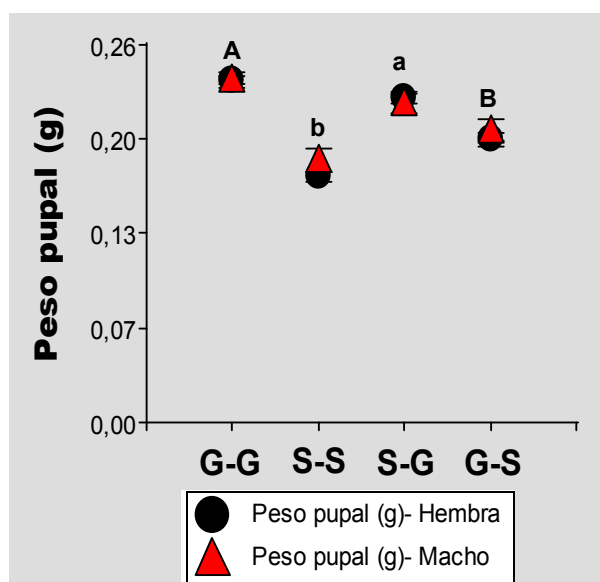


Figura 4.4. Peso de las pupas (g) de machos y hembras de la segunda generación de acuerdo al alimento consumido por las larvas en la generación parental y en la progenie (media e intervalo de confianza) S: Soja; G: Girasol. Letras mayúsculas corresponden al contraste 1 y letras minúsculas al contraste 2. Letras distintas (mayúsculas y minúsculas) indican diferencias significativas (LSD Fisher, $p<0,05$).

3. SUPERVIVENCIA

3.1. PRIMERA GENERACIÓN (G1)

El 77% y el 85% de las larvas que se alimentaron de folíolos de soja y de hojas de girasol, respectivamente, alcanzaron la etapa adulta. De acuerdo a la prueba de homogeneidad, la proporción de individuos que sobrevivieron fue la misma para las larvas que se alimentaron de girasol o de soja ($\chi^2=1,2381$; $p=0,2658$).

3.2. SEGUNDA GENERACIÓN (G2)

Cuando ambas generaciones consumieron girasol hubo una diferencia de alrededor de 8% en la supervivencia con respecto a las larvas que se alimentaron de folíolos de soja en la generación parental y filial (Tabla 4.4).

Tabla 4.4. Porcentaje de individuos de la generación filial de *Rachiplusia nu* que alcanzaron la etapa adulta (supervivencia), según el tipo de alimento consumido por las larvas.

Cultivo 1	Cultivo 2	Supervivencia (%)
Girasol	Girasol	90
	Soja	80
Soja	Girasol	88
	Soja	82

Cultivo 1: Dieta de la generación parental (G1) (girasol o soja)

Cultivo 2: Dieta de la generación filial (G2) (girasol o soja)

Considerando el efecto de la estratificación (dieta de los padres) se determinó, mediante la Prueba de Cochran-Mantel-Haenszel, que las variables estado (vivo o muerto) y el tipo de alimento consumido por las larvas de la generación filial estaban asociadas ($\chi^2_{\text{Cochran}}=4,2464$; $p=0,0393$). La chance, corregida por el efecto del estrato (dieta parental), que los individuos que consumieron girasol no sobrevivan fue un 40% inferior en comparación con aquellos que en su etapa larval se alimentaron de soja (Odds=0.54).

DISCUSIÓN

En muchos organismos, los efectos ambientales pueden transmitirse a través de las generaciones mediante mecanismos diferentes a los de la transmisión de genes (Mousseau & Dingle, 1991; Agrawal, 2001; McAdam *et al.*, 2002). Este tipo de transmisión, conocida como efectos maternos, es común en plantas y animales y puede ser adaptativa, bajo ciertas condiciones (Mousseau & Dingle, 1991; Bernardo, 1996; Mousseau & Fox, 1998). Un efecto parental adaptativo es una modificación del fenotipo de la progenie, atribuible al ambiente parental, que incrementa la eficacia biológica de la progenie. Los insectos generalmente viven en ambientes espacial y temporalmente variables, razón por la cual, cualquier predicción correcta que un individuo realice acerca de las condiciones ambientales que su progenie experimentará, podría incrementar la eficacia biológica de ésta (Mousseau & Fox, 1998). Las madres pueden programar cambios en el desarrollo o en los patrones de asignación de recursos de la descendencia, en respuesta a señales predictivas del ambiente (Czesak & Fox, 2003).

En lepidópteros de importancia económica son escasos los estudios referidos a los efectos maternos de la dieta. En este taxón se investigó, por ejemplo, la influencia de la variación en la calidad de un mismo alimento en términos de la concentración de proteína, metabolitos secundarios tales como glucosinolatos (Rotem *et al.*, 2003) y quercitina (Gould, 1988), y de carbohidratos (Boots & Roberts, 2012). Es así que se identificaron efectos sobre el desarrollo y peso larval, peso pupal, número de días hasta la pupación, peso de los huevos (Gould, 1988; Rotem *et al.*, 2003), la inmunocompetencia y la susceptibilidad a virus de la descendencia (Boots & Roberts, 2012). Sin embargo no se ha evaluado la incidencia de diferentes plantas hospedantes como fuente alimenticia de las larvas de la generación parental sobre el desempeño de la progenie. En este sentido, la presente tesis aporta los primeros antecedentes vinculados a los efectos maternos de la dieta cuando la misma involucra dos especies cultivadas, de diferente familia botánica, con ciclos de desarrollo anual y ambas hospedantes de *R. nu*. Los resultados de este estudio evidenciaron que la dieta de los progenitores afectó el desempeño en términos de tasas de desarrollo, peso pupal y supervivencia de la generación filial. A su vez, dado un determinado alimento suministrado a los progenitores, el alimento consumido por las larvas de la descendencia incidió en su propia tasa de desarrollo y peso de las pupas. Si bien en la generación parental no hubo diferencia en términos de supervivencia entre individuos alimentados con soja o girasol, en la generación filial, debido al efecto parental, sobreviven más con girasol.

Las larvas que consumieron hojas de girasol en generaciones consecutivas experimentaron mayores tasas de desarrollo larval, pesos pupales más elevados, como así también un porcentaje mayor de supervivencia en la generación filial en comparación con las larvas alimentadas con folíolos de soja en la G2, provenientes de progenitores que consumieron girasol. La menor tasa de desarrollo observada para la combinación G-S podría deberse al consumo de un alimento de menor calidad nutricional. Si bien girasol y soja son hospedantes de *R. nu* (Aragón *et al.*, 1997; Quintana & Abot, 1987; Sosa, 1990; Iannone & Leiva, 1994), esta investigación demostró que para *R. nu* la planta de girasol constituye un recurso de mayor calidad nutricional que la planta de soja. No obstante, Pereyra (1995) señaló que soja y girasol son alimentos apropiados para el crecimiento y desarrollo de este lepidóptero polífago, dado que no se encontraron diferencias significativas en los cinco índices nutricionales estudiados (TCoR: tasa de consumo relativo, TCrR: tasa de crecimiento relativo, ECI: eficiencia de conversión del alimento ingerido en biomasa, ECD: eficiencia de conversión del alimento digerido en biomasa y DA: digestibilidad aproximada). Los índices mencionados permiten caracterizar el valor nutricional de las plantas hospedantes. Por ejemplo, Mehrkhou (2013) evaluó el efecto de diferentes variedades de soja sobre índices nutricionales de *Spodoptera exigua*, concluyendo que las variedades nutricionalmente mejores tuvieron DA, ECI y ECD más elevadas y el peso de las pupas fue entre 8 y 15% superior en comparación con aquellas cuyas larvas consumieron variedades de soja con índices nutricionales inferiores. Si bien en la presente tesis no se abordó la forma en que las larvas de *R. nu* utilizan el alimento, a partir de la obtención de índices nutricionales, los resultados obtenidos evidencian que el tipo de alimento consumido por los progenitores en su etapa larval condiciona el desempeño de la generación filial.

Los cultivares ensayados en esta tesis difieren de los empleados por Pereyra (1995). En el caso de la soja se utilizó la variedad Asgrow 5308, GM V y no modificada genéticamente, mientras que en esta tesis se trabajó con la variedad A 8000, GM VIII y con resistencia al herbicida glifosato. Waller & Jones (1989) mencionan que las características físicas de un hospedante cambian con las condiciones de crecimiento y el tipo de cultivar empleado. Niu *et al.* (2013) estudiando el tiempo de desarrollo de *Plutella xylostella* sobre canola detallaron que las diferencias halladas respondían a diferencias en la calidad nutricional de la variedad de canola ensayada o bien se trataba de diferentes poblaciones geográficas de *P. xylostella*. Esto último resulta interesante ya que desde el estudio de Pereyra (1995) y estas investigaciones han

transcurrido más de 20 años, durante los cuales la forma de producción cambió considerablemente, incorporando tecnologías conservacionistas (p. ej. siembra directa) y el mejoramiento genético de los cultivos (p. ej. genotipos resistentes a los herbicidas glifosato o imazapir) (Satorre, 2005; Viglizzo *et al.*, 2010).

Los efectos del ambiente de la generación parental que tienen una influencia marcada en la eficacia biológica de la progenie, en algunos casos son aparentemente no-adaptativos, por lo que la relativa eficacia biológica de la progenie proveniente de padres que se desarrollan en un ambiente desfavorable es reducida en comparación con aquellos padres que experimentan ambientes favorables (Mousseau & Fox, 1998). Esto ocurre por ejemplo en *Heliothis virescens*. La progenie de este lepidóptero, proveniente de madres que se desarrollaron en dieta artificial conteniendo quercitina (compuesto de defensa de la planta) crecieron más lentamente en dietas que contenían quercitina que la progenie proveniente de madres que se alimentaron de dietas libre de este compuesto nocivo (Gould, 1988). Esto sería semejante a lo que ocurrió cuando ambas generaciones de *R. nu* consumieron folíolos de soja, recurso de menor calidad nutricional. Es decir, las larvas que se alimentaron de soja en ambas generaciones presentaron menor tasa de desarrollo, peso pupal y supervivencia en comparación con aquellas que en la generación filial consumieron girasol. En el primer caso podría ocurrir que las larvas se acostumbraron a consumir un alimento de menor calidad. En este último caso, el alimento consumido por las larvas de la G2, al ser un recurso de mayor calidad nutricional, tendría un mayor efecto sobre su propia tasa de desarrollo, peso pupal y supervivencia, que el alimento consumido por las larvas de la generación parental. Fox *et al.*, (1995) y Amarillo-Suárez & Fox (2006) no encontraron evidencias que demostraran que la descendencia tiene mayor eficacia biológica (supervivencia elevada, tiempo de desarrollo reducido o mayor tamaño corporal) cuando se desarrollan en el mismo hospedante que su madre (p. ej. la interacción hospedante materno x hospedante de la progenie no fue significativa). Estos investigadores estudiaron los efectos de la dieta de la generación parental en el fenotipo de su progenie. Utilizaron como sistema biológico la especie de escarabajo *Stator limbatus* (Horn) (Coleoptera: Chrysomelidae) desarrollado sobre semillas de *Acacia greggii* (Fabaceae) y *Pseudosamanea guachapele* (Fabaceae). Los resultados indicaron que el hospedante de la generación parental afectó la progenie por algún mecanismo, hasta el momento poco claro, pero no tienen evidencia que las madres de *S. limbatus* preparan a su descendencia para que estas se desarrollen en un hospedante particular, esto es, no habría un efecto de “aclimatación”, concepto propuesto por Spitzer (2004). Las madres responderían frente a un hospedante de

baja calidad nutricional modificando tamaño y composición de los huevos de tal manera que su progenie esté mejor preparada para tolerar esta situación estresante. En futuras investigaciones se podría incorporar el estudio de las características de los huevos de *R. nu* cuando las larvas de la G2 se alimentan de folíolos de soja, ya que de acuerdo a lo mencionado y en base a otros antecedentes, frente a un alimento de baja calidad nutricional las hembras de Lepidoptera depositan huevos de mayor tamaño (Glazier, 1992; Awmack & Leather, 2002; Ekbohm & Popov, 2004). Los huevos que son demasiado pequeños proveen de pocos nutrientes requeridos para las etapas tempranas del desarrollo y por lo tanto disminuyen la eficacia biológica de la progenie (Takakura, 2004). Por el contrario, huevos de mayor tamaño pueden ayudar a que las larvas compensen la baja calidad nutricional de alimento (Amarillo-Suárez & Fox, 2006), reduciendo la mortalidad larval (Takakura, 2004).

En lo que respecta a la duración del periodo pupal, la combinación girasol-soja presentó una tasa de desarrollo más elevada que la combinación girasol-girasol, es decir, la duración del periodo pupal representó el 33% con respecto al periodo total (larval + pupal) para la primera combinación de alimentos y el 39% para la segunda combinación. Esto podría deberse a que las pupas de la generación filial, provenientes de larvas que consumieron soja, fueron significativamente menos pesadas que las pupas resultantes de larvas que se alimentaron de girasol, por lo que requirieron menos tiempo para la formación de las estructuras morfológicas del imago. Estos resultados coinciden con los hallados para *Heliconius charithonia* (Linnaeus) (Lepidoptera: Nymphalidae). Esta especie completó su desarrollo más rápidamente en *Passiflora adenopoda* que en *P. rubra* (Passifloraceae), aunque el periodo pupal fue significativamente más largo, debido al mayor peso de las crisálidas (Millán *et al.*, 2010).

Cuando la generación parental consumió soja, las diferencias en la tasa de desarrollo de las pupas de la G2, cuyas larvas se alimentaron de soja o de girasol no fueron significativas. No obstante ello, en el periodo total (etapas larval + pupal), la tasa de desarrollo de las larvas de la generación filial que consumieron girasol fue un 10% superior que las que se alimentaron de soja. Cuando un insecto políforo se desarrolla en un único recurso alimenticio (p. ej. cultivos puros) puede experimentar un desbalance nutricional que cause un desempeño subóptimo (Simpson & Simpson, 1990; Waldbauer & Friedman, 1991). En condiciones naturales se espera que los individuos compensen dicho desbalance a través del consumo de dietas mixtas. Este último concepto sería aplicable al sistema de intercultivo soja-girasol, en donde ambos cultivos se siembran simultáneamente y comparten el espacio físico. Las larvas que

nazcan de huevos depositados en folíolos de soja, al tener menor movilidad en los primeros estadios de desarrollo, podrían alimentarse de este sustrato y luego trasladarse a una planta de girasol, para completar el periodo larval. Las larvas de los dos últimos estadios, 5^{to} y 6^{to}, consumen el 90% del consumo larval total (Gamundi & Buchmann, 1983), por lo tanto si las mismas se alimentan de hojas de girasol, se esperaría un mejor desempeño reflejado en una mayor tasa de desarrollo y peso de las pupas. El desplazamiento de la larva de un hospedante a otro no implicaría un gasto energético elevado, porque si bien el distanciamiento entre hileras de girasol y soja, al momento de la siembra es de 0,52 m, a medida que van creciendo, el entresurco se cubre, permitiendo el contacto entre plantas (Obs. pers.), de tal manera que las orugas de *R. nu* accedan al alimento de mayor calidad, compensando cualquier posible deficiencia nutricional. A su vez, las pupas provenientes de larvas que consumieron girasol en G2 y soja en la generación parental resultaron 21% más pesadas que aquellas que se alimentaron de soja en G2. Mehrkhou (2013) menciona que la calidad de la dieta larval afecta otros estados de desarrollo, por lo tanto, pupas de mayor peso afectarían positivamente la fecundidad tal como se describió en el capítulo III.

En concordancia con la teoría de los efectos maternos, el sistema de intercultivo que involucre ambas especies vegetales, favorecería el desempeño de generaciones consecutivas de *R. nu* en comparación con cultivos puros de girasol y soja. Desde el punto de vista del manejo de esta plaga, paisajes en donde se desarrollen los cultivos de girasol y de soja en forma simultánea y en el mismo espacio (intercultivo), contribuirían al establecimiento y permanencia de este lepidóptero en sistemas agrícolas, con las consecuentes implicancias en la rentabilidad y en la sustentabilidad ambiental. En términos de tasa de desarrollo y peso pupal, el intercultivo no sería un sistema de cultivo recomendable para mitigar el impacto de esta plaga, contrariamente a lo esperado, de acuerdo a las teorías planteadas en el capítulo II.

CAPÍTULO V



Influencia de la alimentación de larvas de *Rachiplusia nu* sobre la relación entre su desarrollo y la temperatura

CAPÍTULO V

Influencia de la alimentación de larvas de *Rachiplusia nu* sobre la relación entre su desarrollo y la temperatura

INTRODUCCIÓN

En los organismos ectotérmicos, como los insectos, la temperatura del cuerpo no está regulada internamente por lo que sus tasas metabólicas dependen directamente de la temperatura del ambiente donde viven (Gilbert *et al.*, 2004; Yurk & Powell, 2010). Por lo tanto la temperatura del ambiente es uno de los factores que mayor influencia tiene en su comportamiento, en su tasa de desarrollo, en su capacidad de alimentarse, en su supervivencia, en su reproducción, en su fenología y en su distribución (Beck, 1967; Clavijo *et al.*, 1991; Wagner *et al.*, 1991; Lamb, 1992; Dent, 2000; Bale *et al.*, 2002; Jarvis *et al.*, 2003; Urra & Apablaza, 2005; Yurk & Powell, 2010; Marchioro & Foerster, 2011; Damos & Savopoulou-Soultani, 2012; Tofangsazi *et al.*, 2012; Couret & Benedict, 2014; Wang *et al.*, 2014).

Para los insectos herbívoros, la capacidad para completar su ciclo de vida representa una adaptación exitosa tanto a su planta hospedante como a las condiciones ambientales de su hábitat. El clima puede actuar directamente sobre un insecto ya sea como un factor de mortalidad o mediante la determinación de la tasa de crecimiento y desarrollo (Bale *et al.*, 2002). La temperatura puede inducir cambios en la duración de los ciclos biológicos, los que son más intensos en los herbívoros que se encuentran en la parte aérea de las plantas, ya que están sujetos a variabilidad micro y macroclimática (Bale *et al.*, 2002). A diferencia de los anteriores, los invertebrados edáficos resultan menos influenciados por la temperatura, principalmente en sistemas de siembra directa, donde la ausencia de remoción de suelo y la presencia de rastrojo en superficie, contribuyen a una disminución en las variaciones de la temperatura del perfil (EMBRAPA Soybean & FAO, 2002; Zerbino Bardier, 2005).

El término desarrollo se refiere al proceso de diferenciación celular manifestado por las diferentes etapas del ciclo biológico. Así, el tiempo de desarrollo es la duración entre estados, es decir el tiempo que requiere un individuo para completar un determinado estado o fase de su ciclo biológico (Wagner *et al.*, 1991). Crecimiento, en cambio, es el incremento en biomasa, resultante del desarrollo (Wagner *et al.*, 1991;

Miller, 2011). La distinción de ambos procesos es relevante, ya que hay artrópodos que pueden desarrollarse más rápidamente pero con un crecimiento reducido cuando se alimentan de determinados sustratos, mientras que con otras fuentes alimenticias puede ocurrir una situación inversa (Wagner *et al.*, 1991).

De modo general la franja de temperatura óptima para el desarrollo y la actividad de los insectos se sitúa entre 15°C y 38°C (Bavaresco *et al.*, 2002). En un análisis sobre 56 especies de noctuidos, plaga de diferentes cultivos de importancia económica, se encontró que el rango promedio de temperaturas en las que se desarrollan dichas especies va de 16°C a 30°C (Miller, 2011). No obstante, las condiciones óptimas para el desarrollo resultan difíciles de definir ya que, por ejemplo, las tasas de desarrollo, fecundidad y supervivencia para una especie en particular, pueden tener, cada una de ellas, diferentes valores de temperatura y humedad óptimas (Reinchenbach & Stairs, 1984). Además el efecto de la temperatura ambiental puede ser desigual para cada uno de los distintos estados de desarrollo, razón que justifica el análisis diferencial en las sucesivas etapas del ciclo biológico (Gilbert *et al.*, 2004).

Numerosas investigaciones se condujeron con la finalidad de determinar la relación entre temperatura y desarrollo de insectos de importancia económica. Por ejemplo, en *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) (Kersting *et al.*, 1999), *Corythucha ciliata* (Say) (Hemiptera: Tingidae) (Ju *et al.*, 2011), *Dalbulus maidis* (DeLong) (Hemiptera: Cicadellidae) (Van Nieuwenhove *et al.*, 2016) y en Lepidoptera: *Phyllocnistis citrella* (Gracillariidae) (Margaix & Garrido, 2000), *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae) (Clavijo *et al.*, 1991), *Autographa gamma* (Linnaeus) (Noctuidae) (Honěk *et al.*, 2002), *S. cosmiodes* (Noctuidae) (Bavaresco *et al.*, 2002), *Grapholita molesta* (Busck) (Tortricidae) (Reising, 2005), *Plutella xylostella* (Yponomeutidae) (Marchioro & Foerster, 2011), *Athetis lepigone* Möschler (Noctuidae) (Li *et al.*, 2013) y en *Rachiplusia nu* (Noctuidae) (Fachinetti, 2012), se observó un incremento en la tasa de desarrollo de los diferentes estados del ciclo de vida con el aumento de la temperatura, dentro de un cierto rango térmico. Los resultados de estos estudios proporcionan información útil para predecir la ocurrencia y el número de generaciones por año de determinados insectos perjudiciales en una región específica, y para diseñar protocolos eficaces de intervención y/o control (Hührt *et al.*, 2006; Damos & Savopoulou-Soultani, 2012; Li *et al.*, 2013 y referencias allí citadas).

Los primeros estudios realizados en Argentina, revelaron que la duración de los períodos larval, pupal y total (larval + pupal, sin incluir período embrionario) de *R. nu* desarrollada sobre hojas de girasol, fueron de 14 a 15 días, 9 a 11, y 23 a 26 días,

respectivamente, bajo condiciones controladas de temperatura y humedad ($22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ y $67 \pm 10\%$ de HR). Asimismo se observó que en condiciones de campo se produjo un alargamiento del ciclo biológico como consecuencia de los descensos nocturnos de temperatura y la presencia de fuertes vientos (Salto, 1979). Cuando la fuente alimenticia consistió en folíolos de soja, la duración media de los períodos larval, pupal y total (incluyendo el período embrionario y la longevidad de adultos), en condiciones de laboratorio ($23 \pm 1^{\circ}\text{C}$; $70 \pm 10\%$ de HR), fue de 16,2 días, 10,5 días y 38,2 días, respectivamente (Gamundi & Buhmann, 1983).

El análisis del efecto de la temperatura sobre el desarrollo generalmente se realiza tomando como variable la tasa de desarrollo, la que representa la proporción de la duración de un determinado estado que se cumple por unidad de tiempo (por hora o por día) (Curry & Feldman, 1987; Dent, 2000; Honěk *et al.*, 2002; Damos & Savopoulou-Soultani, 2012; Miranda, 2014). La curva que relaciona la tasa de desarrollo en función de la temperatura tiene forma sigmoidea. En ella se identifica el umbral térmico de desarrollo inferior (T_0), temperatura a la que la tasa de desarrollo cae a cero. La curva se aproxima al punto cero de desarrollo gradualmente, porque los insectos sobreviven frecuentemente durante largos períodos de tiempo a bajas temperaturas con un desarrollo lento. A medida que las temperaturas se incrementan la tasa de desarrollo aumenta (Brière *et al.*, 1999). Las temperaturas extremas afectan los procesos bioquímicos e inclusive si las condiciones térmicas desfavorables persisten pueden conducir a daños irreversibles. Las reacciones enzimáticas son más lentas a temperaturas por debajo del T_0 , y puede producirse una alteración en el gradiente osmótico, con la consecuente deshidratación e incremento en la concentración de solutos en el interior de las células. La deshidratación celular incrementa la viscosidad del citoplasma, interrumpe la función enzimática, altera el pH y la regulación iónica dentro de las células. A temperaturas muy elevadas, las proteínas tienden a desnaturalizarse, las membranas se tornan hiperfluidas, interfiriendo en el transporte de solutos y en la transmisión sináptica (Harrison *et al.*, 2012).

En un cierto rango de temperaturas intermedio, la relación entre tasa de desarrollo y temperatura puede considerarse lineal y en efecto, muchos estudios han tomado tales rangos para ajustar una función lineal, condensando en sus dos parámetros (intercepción y pendiente) el desarrollo termodependiente. En la proximidad a la temperatura óptima (aquella en que la tasa de desarrollo es máxima), la velocidad de desarrollo comienza a disminuir hasta caer bruscamente (Pedigo, 1996; Brière *et al.*, 1999; Shi *et al.*, 2011; Miranda, 2014). Se han propuesto una

variedad de modelos que describen la tasa de desarrollo en función de la temperatura, los que pueden clasificarse en modelos lineales y no lineales (Wagner *et al.*, 1991; Arbab *et al.*, 2006). El modelo matemático más ampliamente utilizado en sistemas agrícolas es el de grados-día. Algunos autores sostienen que esta aproximación lineal es suficiente para predecir el desarrollo de los insectos en el campo y que resulta innecesario utilizar modelos no lineales (Campbell *et al.*, 1974; Gilbert, 1988). Este argumento sería válido para aquellos insectos cuyo desarrollo está prácticamente confinado a las temperaturas dentro de la fase lineal de la curva de desarrollo. Sería el caso de aquellos insectos que entran en diapausa o que emigran anticipándose a condiciones desfavorables (Gilbert & Raworth, 1996). Para otros insectos, como los pulgones que permanecen activos por largos períodos de tiempo a temperaturas altas o bajas, por fuera de la fase lineal de la curva de desarrollo, el uso de modelos no lineales que incluyan dichas temperaturas extremas probablemente arroje predicciones más confiables de la ocurrencia de estas plagas en el campo (Butler *et al.*, 1976; Liu & Meng, 1999). Básicamente los modelos no lineales difieren entre sí por el número de parámetros involucrados y por los supuestos básicos referidos a los efectos de la temperatura cercana a los límites inferior y superior (Roy *et al.*, 2002).

La tasa de desarrollo de los huevos y de las pupas de los insectos está fuertemente influenciada por la temperatura, mientras que el desarrollo de los estados larvales depende no solamente de la temperatura sino que también de otros factores bióticos como la planta hospedante o la dieta (Dent, 2000). Por lo tanto, la calidad del alimento debe considerarse en conjunción con la temperatura, especialmente en aquellos artrópodos que consumen dietas mixtas (Wang *et al.*, 2014) o bien diferentes plantas hospedantes o distintos órganos dentro de la planta (Wagner *et al.*, 1991).

La fenología de la planta hospedante (secuencia de cambios morfológicos y bioquímicos que ocurren durante su desarrollo) es otro factor que afecta directamente la calidad de la misma, como recurso alimenticio de determinadas especies de herbívoros. Barfield & Ashley (1987) reportaron que la fenología del maíz y la temperatura afectaron el tiempo de desarrollo larval de *S. frugiperda*, el consumo de alimento, la longevidad de la hembra adulta y la fecundidad. Estos investigadores concluyeron que el tiempo de desarrollo no solo se relacionó con la temperatura sino también con el estado fenológico de la planta de maíz consumida (vegetativo temprano, vegetativo tardío, o reproductivo). La hipótesis llamada *estado fenológico de la planta* respalda estos resultados, ya que postula que los insectos fitófagos prefieren y se desempeñan mejor en plantas fenológicamente jóvenes que en plantas maduras (Scheirs *et al.*, 2002). Muchas especies vegetales posiblemente destinan más recursos

a las defensas químicas y estructurales en estados jóvenes, más vulnerables a la herbivoría, que a la producción de área foliar y de otras estructuras vegetativas, situación que se invierte en estados fenológicos más avanzados (Herms & Mattson, 1992).

En Lepidoptera, el número de estadios larvales puede variar según las condiciones ambientales y calidad del alimento. El mayor número de estadios larvales se presenta bajo condiciones adversas, principalmente temperaturas extremas, escasa cantidad (p. ej. inanición temporaria) y baja calidad del alimento (p. ej. hojas maduras o dietas carentes de algún componente importante) (Esperk *et al.*, 2007). Luginbill (1928) fue uno de los primeros investigadores que manifestó que en *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae), principal plaga del maíz en diferentes países de la región Neotropical (Casmuz *et al.*, 2010), la ocurrencia de seis o de siete estadios larvales depende de la temperatura. Bhat & Bhattacharya (1978) registraron para esta misma especie seis estadios larvales a 30°C y ocho estadios a 15°C. Esto último también fue corroborado por Clavijo *et al.* (1991), quienes observaron un aumento en la proporción de individuos que requerían de más estadios larvales antes de empupar a medida que disminuía la temperatura. En el caso particular de *Rachiplusia nu*, el número de estadios larvales mantuvo una relación inversa con la temperatura. A 25 y 30°C se registró que la mitad de la población terminó su desarrollo larval en cuatro estadios, mientras que a 10°C completó su desarrollo inmaduro al cabo de seis estadios larvales (Fachinetti, 2012). Otras investigaciones respaldan la incidencia del alimento en el número de estadios larvales. Larvas de *Agrotis ipsilon* (Noctuidae) que consumen maíz presentan un tiempo de desarrollo prolongado y requieren un mayor número de estadios larvales para completar su desarrollo que cuando se alimentan de dieta artificial (Santos & Shields, 1998). El incremento en el número de estadios surge como respuesta a la reducción en la calidad y en la disponibilidad de alimento, lo que fue documentado también para otras especies de Noctuidae tales como *Lymantria dispar* (Leonard, 1970), *Anticarsia gemmatalis* (Waters & Barfield, 1989) *S. frugiperda* (Pencoe & Martin, 1982; Ali *et al.*, 1990), *Chrysodeixis includens* (Kidd & Orr, 2001).

En los capítulos previos de esta tesis se constató que las tasas de desarrollo larval, pupal y total (post-embionaria), así como el peso de las pupas de *R. nu*, fueron superiores cuando las larvas consumieron hojas de girasol en relación a las que se alimentaron de folíolos de soja. También se evidenció el efecto materno, ya que la dieta de los progenitores (soja o girasol) afectó el desempeño de la descendencia. Pencoe & Martin (1981) manifiestan que un hospedante es adecuado cuando el desarrollo de un herbívoro ocurre a una tasa mayor, lo que a su vez produce un

incremento en el número de generaciones por año. En relación a esto y en base a los resultados obtenidos previamente cabe pensar que aquel sistema productivo que incluya al cultivo de girasol, por ser un alimento de mayor calidad nutricional, favorecería el desempeño de *R. nu*, con el consecuente impacto económico-productivo negativo. Tal como se mencionó en párrafos anteriores no solamente diversos factores bióticos pueden influir sobre la tasa de desarrollo de los insectos, sino que también la misma está fuertemente condicionada por la temperatura. Fachinetti (2012) encontró una relación no lineal entre la tasa de desarrollo de *R. nu* y la temperatura. Los antecedentes indican que la calidad del alimento y la temperatura son factores que pueden regir, al menos parcialmente, los cambios en la abundancia de un herbívoro a lo largo del tiempo. Para *R. nu*, en particular, se conoce que existe una relación entre la tasa de desarrollo y la temperatura y que su tasa de desarrollo es mayor cuando se alimenta de girasol que cuando consume folíolos de soja. Sin embargo, hasta el presente el efecto de dichos factores en la tasa de desarrollo de *R. nu* se estudió en forma independiente, es decir, teniendo en cuenta un rango de temperaturas y la misma dieta (Fachinetti, 2012) o bien diferentes sustratos alimenticios a una determinada temperatura (Capítulo III). Stamp (1990) manifiesta que en general los efectos de la temperatura y de la calidad del alimento son examinados individualmente, pero sus efectos pueden ser diferentes cuando se evalúan simultáneamente. Scriber & Slansky (1981) señalan que la temperatura altera los efectos de la calidad del alimento en el desempeño de los insectos, pero los mecanismos involucrados en esta interacción son poco conocidos. Por ello, cabe preguntarse si distintas temperaturas pueden tener un efecto diferente en la tasa de desarrollo de las larvas de *R. nu* cuando éstas consumen diversos sustratos alimenticios, es decir si existe un efecto combinado entre la fuente de alimento y la temperatura.

Estudios realizados en coleópteros (Hagstrum & Milliken, 1988) y en lepidópteros plaga de productos almacenados (Subramanyam & Hagstrum, 1993) revelaron que el porcentaje del tiempo de desarrollo utilizado en un estado de desarrollo particular fue similar en un rango de temperaturas. Van Rijn *et al.* (1995) fueron los primeros en proponer el concepto de tasa isomórfica, entendiéndose como tal, que la proporción del tiempo total empleado en cada estado de desarrollo es independiente de la temperatura y que cada estado de desarrollo comparte el mismo umbral térmico inferior.

En esta tesis, se toma como hipótesis el principio de tasa de desarrollo isomórfica (Van Rijn *et al.*, 1995; Jarošik *et al.*, 2002; Boukal *et al.*, 2015) postulando

que a diferentes temperaturas, se mantienen las mismas diferencias proporcionales de tasas de desarrollo entre distintas dietas. Esta hipótesis tiene configuración de modelo nulo, ya que no le asigna a la temperatura un efecto diferencial entre distintas dietas. De esta hipótesis se desprende la siguiente predicción: sean dos dietas, girasol y soja, y diferentes temperaturas, T_1 a T_n , la diferencia proporcional de tasa de desarrollo de *R. nu* entre dietas no cambiará con la temperatura.

Objetivo

Estudiar la influencia de la alimentación de larvas de *Rachiplusia nu* con soja y girasol sobre la relación entre la temperatura y el desarrollo larval, pupal y total.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sustrato Vegetal

En un lote de la EEA Paraná del INTA, se sembraron dos macroparcels de 0,5 ha cada una, con cultivos puros de girasol (NK 46 CL) y soja (A 8000 RG). La densidad de siembra fue de 4 plantas.m⁻¹ de girasol y 24 plantas.m⁻¹ de soja, con un distanciamiento entre surcos de 0,52 m.

Larvas de *Rachiplusia nu*

Para la realización de los experimentos se utilizaron larvas de una segunda generación de *R. nu* recién nacidas, provenientes de la cría, con dieta artificial, en condiciones controladas de temperatura ($26 \pm 3^{\circ}\text{C}$) y fotoperíodo (14 L: 10 O).

Diseño del Experimento

El diseño del experimento fue completamente aleatorizado, considerando como unidad experimental una unidad de alimentación, provista con folíolos de soja u hojas de girasol, según el tratamiento experimental. Para el armado de las unidades de alimentación se procedió de la misma forma que la descrita en el punto 2.3. del Capítulo III.

En cada unidad de alimentación se colocó una larva neonata de *R. nu* sobre el sustrato vegetal correspondiente. Las hojas de girasol y los folíolos de soja provinieron de plantas desarrolladas en el campo experimental de la EEA Paraná del INTA y en estado vegetativo. Se eligieron como fuente de alimento aquellas hojas que no presentaron defoliaciones, presencia de patógenos y/o daño mecánico.

Dichas unidades de alimentación fueron transferidas a cámaras de cría con temperatura y fotoperíodo controlados. Las luces se conectaron a un temporizador marca TBC® (24 hours Time Switch TS-MG3) de tal manera de garantizar un fotoperíodo de 14 horas de luz y 10 horas de oscuridad. Se consideró dicho fotoperíodo ya que es el más utilizado en las investigaciones que involucran a *R. nu* (p. ej. Pereyra, 1994; Barrionuevo, 2011; Fachinetti, 2012; Barrionuevo *et al.*, 2012). La humedad relativa de la cámara de cría se midió mediante un higrómetro digital Skywatch® Atmos. En todos los experimentos la misma se mantuvo superior al 70% a través de la distribución en diferentes puntos de la habitación de recipientes con agua. Si bien el sistema de climatización de las cámaras de cría fue programado para una determinada temperatura constante, la temperatura efectiva en el interior de la cámara

fluctuó dentro de rangos de mínimas y máximas. Debido a que no puede asegurarse que tales rangos sean regulares a través de toda la experiencia, la temperatura se registró permanentemente a los efectos de tener una medida precisa de la temperatura que constituyó cada tratamiento experimental. Las temperaturas promedio consideradas en los respectivos ensayos fueron $19,7 \pm 2,2$; $24,2 \pm 0,4$; $28,0 \pm 0,9$; $31,8 \pm 0,6$ y $35,0 \pm 0,1$ °C. Cada uno de estos promedios se calculó a través de todo el período que duró la experiencia, desde el día en que el estado de desarrollo comenzó hasta el día en que el mismo finalizó. La temperatura fue registrada cada 60 minutos mediante Data Logger de 2 canales (Cavadevices.com) y diariamente con termómetros analógicos de máxima y mínima.

La cantidad de repeticiones por tratamiento fue variable, de acuerdo a la disponibilidad de larvas de *R. nu* y de sustrato de alimentación (soja o girasol) ($19,7^{\circ}\text{C}$, $n=100$; $24,2^{\circ}\text{C}$, $n=48$; $28,0^{\circ}\text{C}$, $n=40$; $31,8^{\circ}\text{C}$, $n=100$; $35,0^{\circ}\text{C}$, $n=75$).

En cada unidad experimental se registraron las siguientes variables (descripción en sección 2.3, Capítulo III):

- Duración del período larval (DPL)
- Duración del período pupal (DPP)
- Duración total (período post-embrionario, larval + pupal) (DPT)
- Mortalidad (larval + pupal) (%)

Análisis de datos

Se realizó un análisis de la varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis con las diferencias proporcionales de tasas de desarrollo del período total (larval + pupal, post-embrionario) entre las dos dietas (girasol y soja), a diferentes temperaturas medias. Para ello, se utilizó el software estadístico InfoStat versión 2017 (Di Rienzo *et al.*, 2017).

Para conocer si existe un efecto combinado de la temperatura y la fuente de alimento en la tasa de desarrollo de *R. nu*, se procesaron los datos mediante análisis de varianza considerando como variable dependiente la tasa de desarrollo (día^{-1}), un factor (sustrato alimenticio) con dos niveles: soja y girasol y la temperatura ($^{\circ}\text{C}$) como

covariable (Horton & Redak, 1993), mediante el procedimiento Mixed del SAS (2004). En este análisis se utilizó el rango de temperaturas, no los promedios.

El modelo lineal para este diseño fue el siguiente (Ec. 1):

$$\gamma_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta(x_{ij} - \bar{x}) + \varepsilon_{ij} \quad (\text{Ec. 1})$$

donde,

γ_{ij} : tasa de desarrollo

μ : media del modelo

α_i : efecto del cultivo (factor A)

β : es la pendiente de la recta que relaciona a la variable temperatura con la variable tasa de desarrollo.

x_{ij} : es la temperatura observada para cada período (DPL, DPP, DPT) según el cultivo (girasol o soja).

\bar{x} : temperatura media general

ε_{ij} : término de error.

Como el número de repeticiones por tratamiento fue variable, el modelo estadístico utilizado contempló dichos desbalances.

Las medias de las tasas de desarrollo corregidas por temperatura en relación al tipo de alimento se compararon por el método de diferencias mínimas significativas (LSD) para un $\alpha = 0,05$.

Para estimar el desarrollo termodependiente de *R. nu* en relación al sustrato alimenticio se aplicó el modelo no lineal de Brière I (Brière *et al.*, 1999), porque contiene parámetros que permiten evaluar la relación funcional entre temperatura y desarrollo planteado como objetivo del presente capítulo. Dicho modelo se encuentra representado por la siguiente ecuación (Ec. 2):

$$\frac{1}{D} = a \times T \times (T - T_0) \times \sqrt{T_L - T} \quad (\text{Ec. 2})$$

donde,

D es la duración del desarrollo (días) a la temperatura T ;

T_0 (t_{min}) representa el umbral térmico de desarrollo inferior;

T_L (t_{max}) umbral térmico de desarrollo superior (temperatura letal) y

a es una constante empírica

La metodología empleada fue el ajuste de modelos no lineales mediante el método de Newton utilizando el paquete NLIN de SAS (2004).

Se construyeron intervalos de confianza del 95% para la diferencia de valor de los parámetros T_o y T_L del Modelo de Brière I estimados con los datos provenientes de cada tipo de alimento consumido (girasol o soja), para cada período de desarrollo de *R. nu*. Si el Intervalo de confianza de la diferencia de los parámetros contiene el cero "0", implica que estadísticamente no hay diferencias entre los mismos, al nivel de confianza trabajado (Hayter, 2012) (Ec 3).

$$T_1 - T_2 \pm Z, df \sqrt{s^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)} \quad (Ec. 3)$$

donde,

$$s^2 = \frac{(n_1 - 1)s^2_1 + (n_2 - 1)s^2_2}{n_1 + n_2 - 2}$$

$$df = n_1 + n_2 - 2$$

T : parámetros del Modelo de Brière I

RESULTADOS

R. nu completó su desarrollo desde larva neonata a adulto en todas las temperaturas evaluadas, excepto a la temperatura promedio de 35,0°C (Tabla 5.1). En este último caso, la mortalidad de larvas fue del 55 y 80% alimentadas con girasol y soja, respectivamente. Las restantes larvas, si bien interrumpieron la alimentación y construyeron el capullo para dar inicio a la etapa de pupa, la misma no alcanzó a esclerotizar, muriendo la totalidad de los individuos desarrollados sobre ambos sustratos alimenticios (Figura 5.1).



Figura 5.1. Larvas de *R. nu* que no alcanzaron a desarrollarse a una temperatura promedio de 35,0°C.

Como puede observarse en la Tabla 5.1 las temperaturas mínima y máxima del rango evaluado (19,7 y 35,0°C) presentaron los menores y mayores valores de mortalidad de individuos, respectivamente.

Tabla 5.1. Mortalidad de larvas + pupas (%) según sustrato alimenticio (girasol o soja), para cada una de las temperaturas promedio.

Temperaturas promedio (°C)	Mortalidad (%)	
	Girasol	Soja
19,7	5	6
24,2	8	27
28,0	13	23
31,8	72	74
35,0	100	100

En el período larval y dentro del rango de temperaturas promedio evaluadas (19,7-35,0°C), las larvas que consumieron girasol presentaron una mayor tasa de desarrollo en comparación con aquellas que se alimentaron de soja. A los 19,7°C y 28,0°C, las diferencias en las tasas de desarrollo entre dietas fueron similares, mientras que a los 31,8°C la diferencia fue mínima, registrándose una tasa de desarrollo de 0,24% superior en las larvas que se alimentaron de girasol (Figura 5.2.A). Para la temperatura 35,0°C solo se incluyó la información referida a la tasa de desarrollo de las larvas, ya que el 45% de las que consumieron girasol y el 20% de las que se alimentaron con soja si bien superaron esta etapa y formaron el capullo, finalmente no sobrevivieron, por lo que en los períodos pupal y total no fue posible analizar el efecto de dicha temperatura en las tasas de desarrollo. En el período pupal, a los 19,7°C y 28,0°C las tasas de desarrollo fueron 17,05 y 18,53% superiores, respectivamente, en aquellos especímenes cuyas larvas se alimentaron de hojas de girasol, mientras que a las dos temperaturas restantes, las diferencias fueron menos acentuadas (Figura 5.2.B). Al analizar las tasas de desarrollo en el período total, las mismas presentaron un patrón similar al descrito para el período larval (Figura 5.2.C).

El análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis con las diferencias proporcionales de tasas de desarrollo del período total (larval + pupal) entre las dos dietas (girasol y soja), a distintas temperaturas mostró que hay diferencias significativas ($H=105,50$; $p<0,0001$), por lo que las diferencias proporcionales de tasas de desarrollo entre ambos sustratos alimenticios no se conservan a las cuatro temperaturas evaluadas. Las mayores diferencias proporcionales ocurrieron a las temperaturas medias de 28,0°C (25,07%) y 19,7°C (24,24%). Una diferencia proporcional intermedia se observó a los 24,2°C (11,31%), mientras que a la mayor temperatura (31,8°C) evaluada la diferencia proporcional fue de 4,77%.

Tasa de desarrollo (día⁻¹)

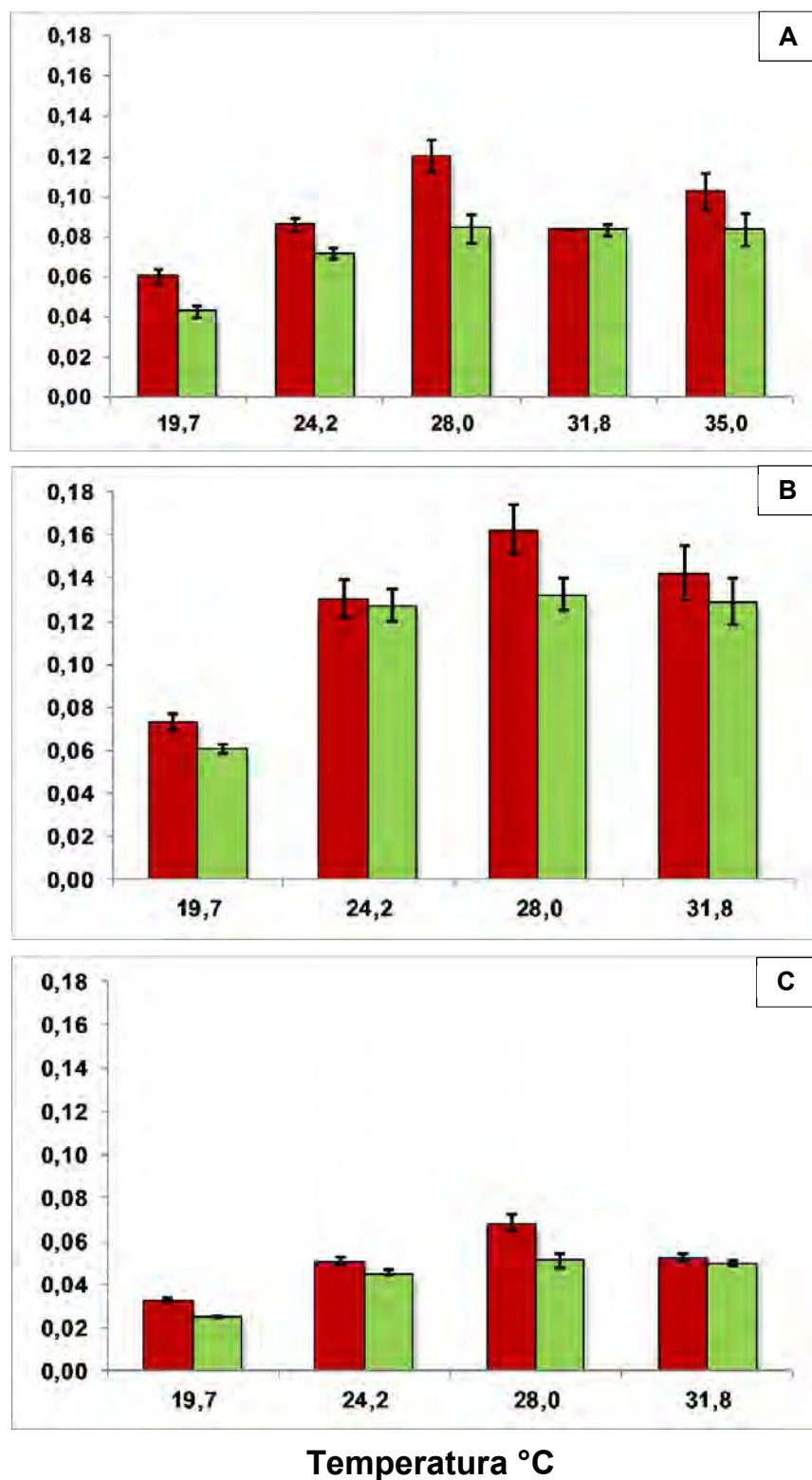


Figura 5.2. Tasas de desarrollo termodependiente (día⁻¹) (± E.E.) para cada alimento y período de desarrollo: larval (A); pupal (B) y total (C), considerando el rango de temperaturas promedio. Barras rojas: tasas de desarrollo de larvas alimentadas con hojas de girasol. Barras verdes: tasas de desarrollo de larvas alimentadas con folíolos de soja.

El tipo de alimento ingerido por las larvas de *R. nu* y la temperatura afectaron las tasas de desarrollo de los períodos larval, pupal y total (Tabla 5.2). Al analizar el efecto alimento corregido por la temperatura, para cada etapa de desarrollo, se observó que en los períodos larval, pupal y total las tasas de desarrollo fueron, respectivamente, 20, 12 y 17% superiores en los individuos cuyo sustrato alimenticio fueron hojas de girasol en lugar de folíolos de soja (Tabla 5.3).

Tabla 5.2. Tabla de Análisis de la varianza para los efectos tipo de alimento (girasol y soja) y temperatura (covariable) sobre la tasa de desarrollo, correspondientes a los períodos larval, pupal y total.

Factor	GL	F	Valor de P	CME
Período larval				
Alimento	1	33,22	<0,001	0,0002
Covariable Temperatura	1	90,25	<0,001	
Período pupal				
Alimento	1	4,96	0,029	0,0007
Covariable Temperatura	1	100,84	<0,001	
Período total				
Alimento	1	29,58	<0,001	0,000049
Covariable Temperatura	1	196,75	<0,001	

GL: grados de libertad; F: estadístico de prueba; P: valor de probabilidad; CME: cuadrado medio del error.

Tabla 5.3. Tasa de desarrollo media (día⁻¹) corregida por el efecto de la temperatura y E.E., en relación al tipo de alimento ingerido por las larvas de *R. nu*, correspondientes a los períodos larval, pupal y total.

Efecto Alimento	Media	E.E.
Período larval		
Girasol	0,084 a	0,002
Soja	0,067 b	0,001
Período pupal		
Girasol	0,113 a	0,004
Soja	0,099 b	0,004
Período total		
Girasol	0,046 a	0,001
Soja	0,038 b	<0,001

Letras diferentes en cada período de desarrollo difieren significativamente ($\alpha = 0,05$)
E.E.: error estándar.

Con ambas dietas la tasa de desarrollo aumentó con el incremento de las temperaturas. En el período larval, la tasa máxima de desarrollo termodependiente ajustada por regresión no lineal al Modelo de Brière I de las larvas que se alimentaron de hojas de girasol ocurrió a los 31,0°C, a partir de esta temperatura la curva comenzó a descender. En las larvas que consumieron folíolos de soja, la tasa máxima de desarrollo termodependiente tuvo lugar a los 29,4°C, observándose un descenso más pronunciado en la misma en comparación con las que consumieron girasol, luego de dicha temperatura. A la temperatura óptima la tasa de desarrollo de las larvas que consumieron girasol fue 16,4% superior a la tasa de desarrollo de aquellas que consumieron folíolos de soja. En el período pupal, la tasa máxima de desarrollo para las que se alimentaron de girasol ocurrió a los 29,5°C, produciéndose una caída abrupta de la curva con temperaturas mayores, mientras que para las que utilizaron como sustrato alimenticio folíolos de soja, la tasa máxima de desarrollo ocurrió a los 32,7°C, es decir a una temperatura 3,2°C superior a la registrada para las que tuvieron como dieta girasol. A la temperatura óptima la tasa de desarrollo pupal cuyas larvas consumieron girasol fue 2% superior a la tasa registrada para las larvas que se alimentaron de soja. En el período total (larval más pupal) para ambas dietas, la tasa máxima de desarrollo se produjo a temperaturas similares, es decir, a 29,5°C para las larvas alimentadas con girasol y a 29,7°C para las larvas que consumieron soja. Sin embargo, a la temperatura óptima de desarrollo, la tasa de desarrollo de las larvas que consumieron hojas de girasol fue 16,1% superior en comparación con la tasa de desarrollo de las que se alimentaron de folíolos de soja (Figura 5.3.).

En la Tabla 5.4 se presentan los valores medios de los coeficientes y los parámetros de desarrollo termodependiente estimados a través del modelo no lineal de Brière I (*Ec. 2*) para los períodos de desarrollo larval, pupal y total de *R. nu*, según diferentes fuentes de alimento. Las temperaturas mínimas para el desarrollo de *R. nu* fueron diferentes sujetas al tipo de alimento ingerido por las larvas, en los tres períodos de desarrollo considerados en el presente estudio. Los umbrales térmicos superiores fueron también diferentes para los períodos larval, pupal y total de acuerdo a la fuente de alimento. Para el período larval los parámetros t_{min} (umbral térmico de desarrollo inferior) y t_{max} (umbral térmico de desarrollo superior) difirieron en 0,6°C y 2,1°C, respectivamente, entre las larvas que consumieron girasol y aquellas que crecieron sobre folíolos de soja. En el período pupal las diferencias entre umbrales térmicos de desarrollo inferior y superior fueron de 1,7°C y 4,2°C, respectivamente, mientras que para el período total, la mayor diferencia ocurrió en el umbral térmico inferior (2,9°C) entre las larvas que consumieron girasol o folíolos de soja. El

parámetro $t_{m\acute{a}x}$ difirió en apenas 0,4°C entre larvas que se alimentaron de girasol y aquellas cuya dieta consistió en folíolos de soja. El intervalo de confianza de la diferencia de los parámetros, tanto para el umbral térmico de desarrollo inferior como para el umbral térmico de desarrollo superior y para las etapas larval, pupal y total, de acuerdo al tipo de alimento consumido por las larvas de *R. nu*, contuvieron el cero, por lo que al nivel de confianza trabajado no existieron diferencias entre los mismos (Ec. 3 y Tabla 5.5.).

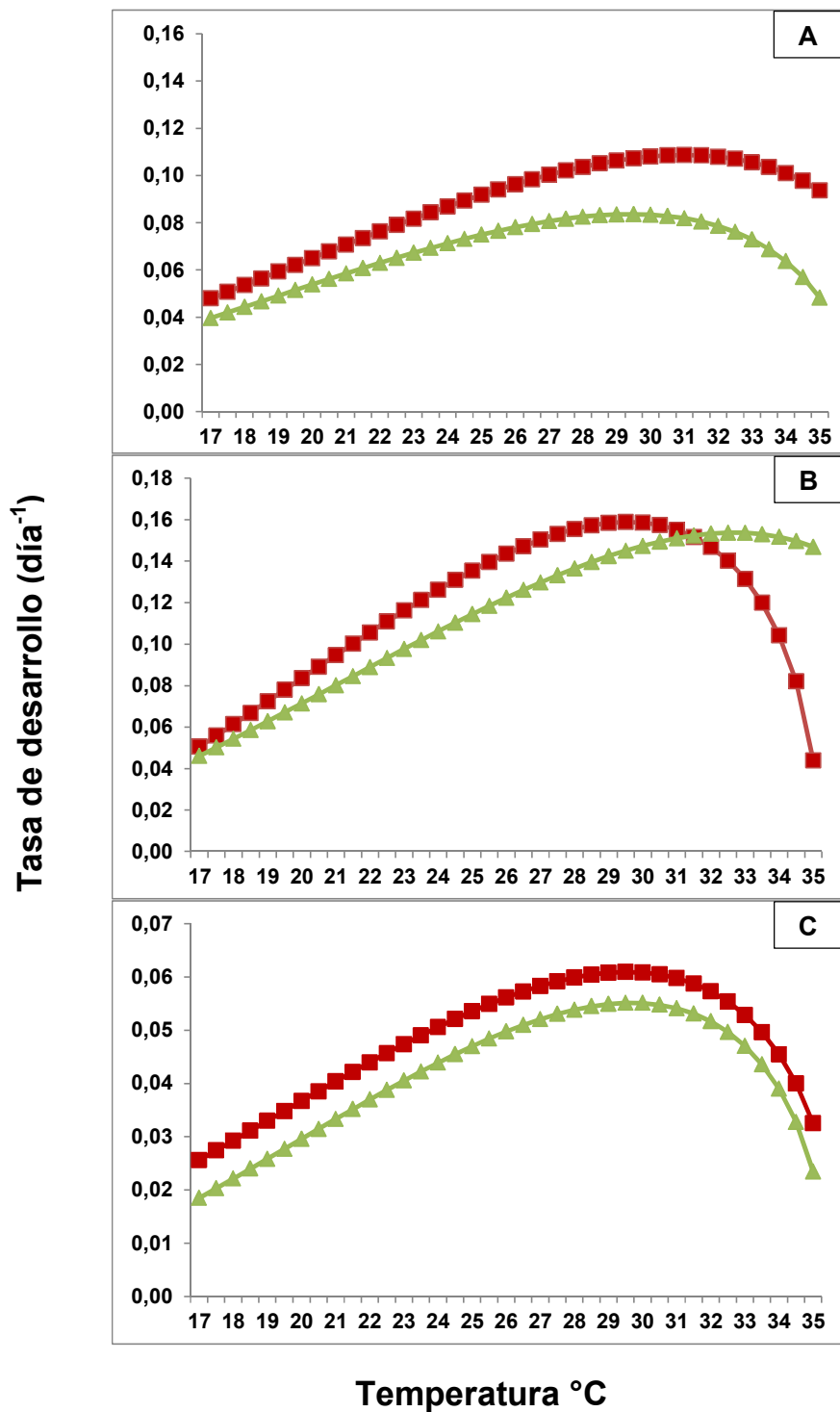


Figura 5.3. Tasa de desarrollo termodependiente (día⁻¹) ajustada por regresión no lineal al Modelo de Brière I según fuente de alimento y período de desarrollo. A: período larval; B: período pupal y C: período total. Línea roja: tasa de desarrollo de larvas alimentadas con girasol. Línea verde: tasa de desarrollo de larvas alimentadas con folíolos de soja.

Tabla 5.4. Valores medios (\pm E.E.) de los coeficientes y parámetros de desarrollo termodependiente estimados por análisis de regresión no lineal al modelo de Brière I para cada período de desarrollo de *R. nu*, según diferentes fuentes de alimento.

		Girasol	Soja
Período Larval	a	0,00005 \pm 0,00002	0,00005 \pm 0,00001
	T_0 ($=t_{min}$)	4,732 \pm 5,154	5,379 \pm 4,678
	T_L ($=t_{max}$)	38,124 \pm 3,840	36,024 \pm 1,597
	R ²	97,426	97,387
	CME	0,00019	0,00013
	F	479,000	564,390
	Valor p	< 0,001	< 0,001
Período Pupal	a	0,000125 \pm 0,00003	0,00008 \pm 0,00004
	T_0 ($=t_{min}$)	11,421 \pm 2,035	9,742 \pm 4,980
	T_L ($=t_{max}$)	35,181 \pm 1,537	39,422 \pm 4,381
	R ²	95,339	92,122
	CME	0,00072	0,00108
	F	265,999	183,000
	Valor p	< 0,001	< 0,001
Período Total	a	0,00004 \pm 0,00001	0,00004 \pm 0,00001
	T_0 ($=t_{min}$)	7,855 \pm 2,431	10,825 \pm 1,395
	T_L ($=t_{max}$)	35,811 \pm 1,444	35,456 \pm 0,865
	R ²	97,969	98,266
	CME	0,00005	0,00003
	F	649,823	918,975
	Valor p	< 0,001	< 0,001

Tabla 5.5. Intervalo de confianza (95%) para la diferencia de valor de los parámetros T_0 y T_L del Modelo de Brière I estimados con los datos provenientes de cada tipo de alimento consumido por las larvas de *R. nu*, para los períodos larval, pupal y total.

		Intervalo de confianza (95%)	
		Límite inferior	Límite superior
Período larval	T_0 ($=t_{min}$)	-14,289	12,995 ^{NS}
	T_L ($=t_{max}$)	-6,051	10,251 ^{NS}
Período pupal	T_0 ($=t_{min}$)	-8,865	12,223 ^{NS}
	T_L ($=t_{max}$)	13,341	4,859 ^{NS}
Período total	T_0 ($=t_{min}$)	-8,444	2,544 ^{NS}
	T_L ($=t_{max}$)	-1,944	4,654 ^{NS}

NS: No Significativo (nivel de confianza de 95%)

DISCUSIÓN

Numerosos trabajos se refieren a la duración de los estados de huevo, larva, pupa y adulto de *R. nu* considerando un mismo recurso alimenticio a una determinada temperatura (Salto, 1980; Gamundi & Buhmann, 1983; Sánchez & Pereyra, 1995) o a diferentes temperaturas (Barrionuevo *et al.*, 2012; Fachinetti, 2012), o bien distintas variedades de un cultivo a una única temperatura (Perotti, 2010). Sin embargo, no existen antecedentes que comparen la velocidad de desarrollo termodependiente de *R. nu* cuando las larvas consumen dos de sus principales cultivos hospedantes (soja y girasol), en condiciones de laboratorio.

R. nu no completó su desarrollo a los 35,0°C, independientemente de la fuente de alimento. Si bien solo el 45% y el 20% de las larvas alimentadas con girasol y soja bajo este régimen térmico, respectivamente, lograron finalizar la etapa larval, la tasa a la que se desarrollaron fue superior a la registrada a los 31,8°C. A la mayor temperatura evaluada (35,0°C) las tasas de desarrollo del período larval fueron 21,6% y 0,1% superiores cuando las larvas se alimentaron de girasol y soja, respectivamente, en relación a las tasas registradas a 31,8°C. Ese porcentaje de larvas que sobrevivieron podrían estar más adaptadas a desarrollarse a mayores temperaturas por lo que el efecto de este factor se traduciría en un menor tiempo requerido para completar el estado larval. Ali *et al.* (1990) encontraron que la tasa de desarrollo de los estados de huevo, larva y pupa de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) se incrementó a medida que la temperatura ascendía de 21°C a 33°C, en todas las dietas evaluadas (algodón, maíz y dieta artificial). A 35,5°C la tasa de desarrollo en general disminuyó en relación a los 33°C, sin embargo, se observó un incremento en las tasas de desarrollo de las larvas del primer estadio en todas las dietas, del tercer y quinto estadio de aquellas larvas que se alimentaron de maíz y de dieta artificial y del segundo, tercer y cuarto estadio de las larvas que consumieron algodón. También a 35,5°C los porcentajes de supervivencia fueron relativamente más bajos en comparación con las otras temperaturas evaluadas, aunque dicho porcentaje dependió del alimento consumido. En esta tesis se registró la tasa de desarrollo del período larval, es decir desde larva neonata hasta el inicio del estado de prepupa, según la fuente de alimento suministrada, sin considerar la duración de cada uno de los estadios larvales, por lo que podría haber ocurrido un incremento en la tasa de desarrollo en alguno/s de los estadios larvales tal como lo señalaron Ali *et al.* (1990). Sin embargo, estos autores no ensayaron una explicación de las causas que pudieron dar origen a este patrón. Janković-Tomanić & Lazarević (2012) manifiestan que

algunas especies de lepidópteros tal como *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae), bajo condiciones de estrés (p. ej. temperaturas extremas) tienden a aumentar la tasa de desarrollo.

La mortalidad de larvas y pupas de *R. nu* que ocurrió a 35,0°C podría relacionarse más bien con el ambiente en que se desarrollaron los individuos que con una limitante térmica, ya que Fachinetti (2012) constató que individuos de este lepidóptero se desarrollaron a 35°C, requiriendo un tiempo promedio de 23 días desde huevo a adulto. No obstante, los porcentajes de sobrevivencia de individuos expuestos a 30 y 35°C fueron bajos en los dos primeros estadios de desarrollo como así también en etapas avanzadas del ciclo (larva IV y pupa) (Fachinetti, 2012). Las diferencias entre los resultados obtenidos en esta tesis y los de esta investigadora podrían atribuirse al tipo de alimento suministrado. En este último caso las larvas de *R. nu* se alimentaron con dieta artificial, mientras que en el presente estudio las larvas consumieron dieta natural (girasol o soja).

El desarrollo de los diferentes estados de vida de los insectos se encuentra fuertemente influenciado por la temperatura (Honěk *et al.*, 2002). Un efecto directo de este factor sobre las reacciones metabólicas puede ser causa de un menor tiempo de desarrollo de los insectos criados a temperaturas elevadas (Levesque *et al.*, 2002). La larva que crece a temperaturas elevadas podría alcanzar el peso crítico necesario para el inicio del proceso de la muda más rápidamente que aquella larva que se desarrolla a bajas temperaturas (Ratte, 1984). En el contexto de esta tesis, se observó que la diferencia proporcional de tasas de desarrollo de *R. nu* entre dietas no fue la misma a las temperaturas evaluadas, por lo que estos resultados contradicen la predicción que deriva de la hipótesis postulada. La ausencia de tasa isomórfica también ocurrió en otros lepidópteros tales como *Cnaphalocrocis medinalis* Guenée (Pyralidae) (Padmavathi *et al.*, 2013) y *Spodoptera exigua* (Noctuidae) (Karimi-Malati *et al.*, 2014). Jarošík *et al.* (2002) analizaron el tiempo de desarrollo de 342 especies de 11 órdenes de insectos y siete especies de ácaros en relación a un rango de temperaturas, detectando la existencia de tasa isomórfica en el 57% de los casos analizados. Las causas de la ausencia de tasa isomórfica, en el 43% de los casos restantes, se debieron fundamentalmente a los valores obtenidos a temperaturas extremas. Dentro del rango de temperaturas evaluadas en los casos analizados, a las temperaturas más bajas o a las más elevadas, los individuos sucumbieron ante condiciones adversas. En esta tesis, la mortalidad diferencial tuvo lugar a 31,8°C, ya que menos del 30% de los individuos llegaron al estado adulto. La segunda razón propuesta por Jarošík *et al.* (2002) se relaciona con la imprecisión en la medida del tiempo de desarrollo,

particularmente a altas temperaturas. Como el tiempo de desarrollo disminuye con la temperatura, el número de observaciones por estado también disminuye si el monitoreo se realiza a intervalos constantes tanto a bajas como a temperaturas elevadas. Para tener precisión, el intervalo de tiempo debe ser proporcional a la longitud del estado de desarrollo a cada temperatura, lo que no sucedió en muchos de los casos estudiados (Shaffer, 1983; Van Rijn *et al.*, 1995), determinando la fuente de error más probable, principalmente en los datos obtenidos a temperaturas altas. En esta tesis, las observaciones se realizaron a intervalos fijos, es decir, cada 48 horas en todas las temperaturas evaluadas, por lo que la ausencia de isomorfismo podría también atribuirse a lo planteado por Jarošik *et al.* (2002).

Asimismo, Honěk *et al.* (2002) determinaron que sobre un total de 12 dietas suministradas a *Autographa gamma* (Lepidoptera: Noctuidae), con 9 de ellas la proporción del tiempo de desarrollo larval fue diferente a las tres temperaturas evaluadas, dos extremas y una intermedia. En este caso, los autores atribuyeron la ausencia de tasa isomórfica a la calidad nutricional del alimento, ya que las hojas de las plantas hospedantes suministradas a las larvas difirieron en el contenido de agua y de nitrógeno. En el contexto de esta tesis, en el capítulo IV se demostró que girasol y soja representan recursos alimenticios de diferente calidad nutricional para *R. nu*, por lo que también podría explicar la ausencia de isomorfía.

Existen pocos antecedentes que relacionen el efecto combinado de la temperatura y la dieta larval en el desarrollo de lepidópteros de importancia económica. Investigaciones realizadas con *Plodia interpunctella* (Pyralidae) (Johnson *et al.*, 1992), *Manduca sexta* (Sphingidae) (Stamp & Horwath, 1992), *Agrotis ipsilon* (Noctuidae) (Santos & Shields, 1988), *Autographa gamma* (Noctuidae) (Honěk *et al.*, 2002), *Malacosoma disstria* (Lasiocampidae) (Levesque *et al.*, 2002) y *L. dispar* (Janković-Tomanić & Lazarević, 2012) constituyen ejemplos que vinculan dichos efectos en el desarrollo de las diferentes etapas del ciclo de vida. Diversos autores mencionan que resulta difícil diferenciar experimentalmente la importancia relativa de la temperatura y la dieta (p. ej. Bernard & Robin, 1984; Sweeney *et al.*, 1986), puesto que la temperatura puede afectar el desarrollo de las larvas a través de su influencia directa sobre la tasas de consumo, asimilación y respiración, eficiencia de conversión del alimento, cinética enzimática y procesos endócrinos (Vannote & Sweeney, 1980; Sweeney & Vannote, 1981) o bien indirectamente por alteración de la cantidad o calidad del alimento (Sweeney *et al.*, 1986). Por otra parte, cuando los efectos de la temperatura y de la dieta se examinan simultáneamente, los resultados pueden ser diferentes a la respuesta de los herbívoros a cada factor individual (Stamp & Horwath,

1992), es decir se pueden detectar interacciones. Yang *et al.* (1996 y referencias allí citadas) sugieren que cuando ambos efectos son examinados en conjunto, los resultados indican que los efectos de la calidad del alimento pueden ser significativamente alterados por la temperatura.

En el contexto de esta tesis, la temperatura y el alimento condicionaron las tasas de desarrollo de *R. nu* en los períodos larval, pupal y total, identificándose una interacción significativa entre la dieta y la temperatura. Estos resultados coinciden con investigaciones realizadas con *Manduca sexta* (Stamp & Horwath, 1992). En este caso el objetivo fue evaluar los efectos combinados de la variación de la temperatura diurna y de la concentración de rutina, glucósido flavonídeo, también llamado vitamina P, en la dieta artificial, sobre el desarrollo, el proceso de la muda y la eficiencia de utilización del alimento del tercer estadio larval de dicho lepidóptero. A baja temperatura (20°C) y elevada concentración de rutina (18 μ moles) se incrementó el período invertido en el proceso de la muda y por lo tanto la extensión de la duración del estadio, lo que tiene serias consecuencias ecológicas para las larvas. En primer lugar, para larvas de Lepidoptera la calidad del hospedante cambia durante su estación de crecimiento (Scriber & Slansky, 1981), y si su período de desarrollo se extiende, la calidad del alimento tiende a disminuir, por lo que llega al período pupal con menor peso, con las implicancias negativas sobre su fecundidad. En segundo término, períodos de desarrollo más prolongados incrementan también el tiempo de exposición a predadores y parasitoides. Finalmente, un aumento en el período de la muda *per se* significa que las larvas podrían invertir más tiempo en un estadio particularmente vulnerable, caracterizado por la escasa movilidad y por la imposibilidad de defenderse (p. ej. a través de la regurgitación o mordedura) (Stamp & Horwath, 1992; Yang *et al.*, 1996; Kollberg *et al.*, 2013).

Santos & Shields (1998) encontraron que los efectos combinados de la temperatura y la dieta fueron significativos según la variable evaluada. La supervivencia larval fue afectada tanto por la temperatura como por la dieta, no así para la variable grados-día requeridos para completar cada estadio larval de *A. ipsilon*. En este último caso, la dieta tuvo un efecto significativo sobre los grados días requeridos para completar el 5^{to} y 6^{to} estadio larval y la totalidad del período larval. La larva que consumió maíz mostró un tiempo de desarrollo más prolongado y requirió un mayor número de estadios para completar su desarrollo en comparación con las larvas que se alimentaron de dieta artificial. Estos resultados sugieren que el tiempo de desarrollo más prolongado, a través de la adición de estadios larvales, es una estrategia de este lepidóptero para alcanzar el peso mínimo antes del período de

pupa, cuando la fuente de alimento es subóptima. En referencia a *R. nu*, a la temperatura mínima de 10°C se observó un incremento en el número de estadios larvales y en el tiempo de desarrollo (Fachinetti, 2012). De acuerdo a los resultados de esta tesis, se podría pensar que la mayor duración del período larval, a la menor temperatura evaluada, independientemente del alimento ingerido (girasol o soja), se debió a un incremento en el número de estadios larvales más que a una prolongación en el tiempo de desarrollo de cada estadio larval (Santos & Shields, 1998).

Fachinetti (2012) encontró que la tasa de desarrollo en el período larval de individuos de *R. nu* alimentados con dieta artificial, para el rango de temperaturas equivalente al de este estudio (19-35°C), varió entre 0,044 y 0,102 día⁻¹. En la presente tesis, la tasa de desarrollo de larvas alimentadas con girasol fue superior en 4 de las 5 temperaturas evaluadas en comparación con la tasa de desarrollo de las larvas que consumieron dieta artificial obtenidas por Fachinetti (2012). La diferencia de tasa de desarrollo girasol-dieta artificial fue más acentuada a 19,7, 24,2 y 28,0°C registrándose diferencias porcentuales de 23,49, 20,35 y 33,02%, respectivamente, mientras que a 35,0°C, la tasa de desarrollo fue 3,92% superior en larvas alimentadas con girasol. Solo a 31,8°C la duración del período larval fue 5,7% superior en aquellas larvas que se desarrollaron en dieta artificial. En el caso de las larvas alimentadas con soja la situación fue inversa, es decir, en 3 de las 5 temperaturas experimentales la tasa de desarrollo de las larvas que consumieron dieta artificial en el trabajo de Fachinetti (2012) fue superior. La diferencia de tasa de desarrollo soja-dieta artificial dependió de la temperatura, con valores máximos a 35,0°C, temperatura a la que la tasa de desarrollo de las larvas que consumieron dieta artificial fue 18,66% superior a la tasa de aquellas que se alimentaron con soja. La menor diferencia de tasa de desarrollo (5,93%) ocurrió a los 31,8°C. A 24,2 y 28,0°C la tasa de desarrollo de las larvas que consumieron soja fue 3,92 y 4,3% superior a la tasa de desarrollo de las larvas alimentadas con dieta artificial. Analizando los resultados de Fachinetti (2012) y los de esta tesis, a temperaturas equivalentes y en términos de tasa de desarrollo, se podría pensar que el girasol representa un alimento de mayor calidad nutricional que la dieta artificial y esta última mejor que los folíolos de soja.

En referencia a la diferencia de la tasa de desarrollo soja-dieta artificial existen antecedentes que no respaldarían lo manifestado en el párrafo anterior. Barrionuevo *et al.* (2012) compararon sus resultados con los obtenidos por Sánchez & Pereyra (1995) concluyendo que la duración del período larval de *R. nu* alimentada con dieta artificial fue superior al tiempo de desarrollo de las larvas que consumieron hojas frescas de soja, aunque dichos resultados no serían comparables ya que la temperatura en la que

se desarrollaron las larvas difirieron en 2°C. Barrionuevo *et al.* (2012) explicaron que la dieta artificial utilizada para la cría de *R. nu* era la que se empleaba para otras plagas agrícolas tales como *Spodoptera frugiperda* o *Diatraea saccharalis* (Murúa *et al.*, 2003; Prieto *et al.*, 2008) por lo que quizás carecía de algún nutriente esencial que garantizara un mejor desempeño de las larvas. Contrariamente a lo observado por Barrionuevo *et al.* (2012) y en concordancia con el análisis descrito en el párrafo anterior, en estudios realizados con *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae), se determinó que a 27°C, las larvas que se desarrollaron sobre hojas de soja demoraron aproximadamente tres días más en completar el período larval que aquellas que crecieron en dieta artificial (Abdullah *et al.*, 2000). El cambio en algún componente básico de la dieta artificial puede tener un efecto directo sobre la tasa de desarrollo. Por ejemplo, la sustitución de harina de poroto por la de garbanzo favoreció la cría de *Helicoverpa gelotopoeon* (Lepidoptera: Noctuidae) como consecuencia del mayor contenido en ácidos grasos poliinsaturados de esta última (Fichetti *et al.*, 2013).

En lo que respecta a la duración de las diferentes etapas del ciclo biológico de *R. nu* desarrollada sobre hojas de girasol los antecedentes son muy escasos. Los estudios conducidos por Ruffinelli (1942) señalan que las tasas de desarrollo disminuyeron desde la segunda a la cuarta generación con valores comprendidos entre 0,083 y 0,056 día⁻¹, pero dichas investigaciones no permiten realizar comparaciones dado que no se especifica la temperatura a la cual se criaron las larvas. En cambio, la tasa promedio de desarrollo larval registrada por Salto (1980) bajo condiciones controladas (T: 22 ± 3°C y H.R.: 67 ± 10%) fue de 0,070 día⁻¹. Consistentemente, este valor es intermedio a las tasas obtenidas en las dos temperaturas más bajas consideradas en esta tesis (19,7°C: 0,0603 y 24,2°C: 0,0859), cuando el sustrato alimenticio de las larvas fueron hojas de girasol.

El modelo no lineal de Brière I se aplicó con el propósito de describir y comparar el desarrollo termodependiente de *R. nu* en relación al sustrato alimenticio. Las diferencias entre parámetros (T_0 y T_L) si bien no fueron significativas, desde el punto de vista biológico y productivo podrían tener implicancias. En el caso de las larvas que se desarrollen en girasol, al presentar umbrales térmicos T_0 y T_L superiores y tasas de desarrollo más elevadas en comparación con soja, podría provocar que las dos primeras generaciones se completen en menor tiempo y en consecuencia que pueda anticiparse el inicio de una tercera generación. Sin embargo, es necesario considerar que en algunas zonas el cultivo de girasol se siembra más temprano (aproximadamente un promedio de 60 días antes, dependiendo del cultivar) que el cultivo de soja. Así, la presencia del girasol en el territorio podría contribuir a un

desarrollo algo más acelerado, proporcionando adultos que pueden infestar cultivos de soja cercanos incluso en etapa vegetativa. Aunque pueda haber una diferencia de fechas de siembra de ambos cultivos, lo cierto es que tienen un alto nivel de coincidencia temporal. Debido a las diferencias de velocidad de desarrollo en ambos cultivos, su coexistencia contribuiría a una ampliación del período correspondiente a cada generación: El cultivo de girasol generaría adultos durante una ventana de tiempo más temprana que el cultivo de soja y en conjunto ambos cultivos aportarían adultos al ambiente durante un período de tiempo más prolongado que con la presencia de uno solo de ellos. En este escenario de demoras distribuidas (Curry & Feldman, 1987) de las larvas, aportaría una levemente mayor complejidad en la toma de decisiones de manejo. Los coeficientes y parámetros del modelo empleado en esta tesis no resultan confrontables con los umbrales y los parámetros determinados por Fachinetti (2012), ya que en este último caso las larvas se alimentaron con dieta artificial y las relaciones entre las tasas de desarrollo y la temperatura de los estados de huevo, pupa y de todos los estados larvales fueron representadas mediante la función no lineal de Lactin II. Además, en esta tesis se utilizó un rango de temperaturas más acotado, lo que impidió identificar con certeza dichos umbrales térmicos. Para varias especies de la Familia Noctuidae se determinaron umbrales térmicos inferiores (Honěk *et al.*, 2002 y referencias allí citadas), observándose una gran variabilidad de este umbral para una misma especie, relacionado principalmente con los métodos usados en las respectivas investigaciones. Por ejemplo, para el desarrollo larval de *Spodoptera frugiperda* los umbrales térmicos inferiores oscilaron entre 5,5 y 18,6°C (Combs & Valerio, 1980; Isenhour *et al.*, 1985; Ali *et al.*, 1990). A partir de los resultados descriptos en el presente capítulo surge la necesidad de continuar con investigaciones que permitan estimar la tasa de desarrollo de *R. nu*, cuando las larvas de este lepidóptero se alimentan de diferentes sustratos naturales, en un amplio rango de temperaturas experimentales, con la finalidad de obtener información necesaria para describir su dinámica poblacional termodependiente.

De acuerdo a 10 años de registro de captura de adultos de *R. nu* en la trampa de luz ubicada en la EEA Paraná del INTA, los mayores niveles de abundancia ocurren en el 50% de los casos en el mes de febrero y en el 30% en el mes de marzo, dependiendo del ciclo agrícola considerado (obs. pers.). La temperatura media histórica (Observatorio Agrometeorológico INTA EEA Paraná, 1934-2018) en el mes de febrero es de 25,1°C (Temp. máx. media: 31,0°C- Temp. mín. media: 19,3°C) y en el mes de marzo de 22,2°C (Temp. máx. media: 28,1°C- Temp. mín. media: 16,4°C). En los experimentos conducidos en laboratorio, en el marco de la presente tesis, se

observó que las mayores tasas de desarrollo desde larva recién nacida a adulto, cuando los estados inmaduros consumieron girasol y soja, sucedieron a la temperatura promedio de 29,6°C, es decir, 4,5°C y 7,4°C por encima de las temperaturas medias históricas para febrero y marzo, meses en los cuales existe una mayor probabilidad de encontrar larvas de este lepidóptero consumiendo hojas de los cultivos de girasol y soja, en lugar de pasturas de alfalfa, en el Departamento Paraná (Entre Ríos). Por lo tanto, en condiciones de campo es probable que la tasa de desarrollo de *R. nu* sea menor, es decir que requiera una mayor cantidad de días para completar su desarrollo de huevo a adulto, tanto cuando las larvas se alimentan de folíolos de soja como de hojas de girasol.

La mayor o menor duración de los estados de desarrollo de *R. nu* como respuesta a los cambios de temperatura, en función del tipo de alimento consumido, refleja la importancia de estos factores en su desempeño. En base a la 3^{ra} Comunicación Nacional de Cambio Climático (CIMA, 2015), en la mayor parte de Argentina hubo un aumento de temperatura de hasta medio grado entre 1960 y 2010, situación similar a lo acontecido a nivel global donde el incremento de la temperatura media es de 0,6°C en los últimos 100 años (IPCC, 2013). El cambio climático provoca modificaciones en los patrones regionales de temperatura, precipitaciones y frecuencia de eventos extremos (sequías, inundaciones) (Caviglia *et al.*, 2016). Cualquier cambio climático que se produzca no resulta neutral para la vida de los insectos (Jaworski & Hilszczański, 2013). En estos últimos hay al menos tres mecanismos principales, en el corto plazo, en respuesta al cambio climático. Estos incluyen cambios microevolutivos, en la dispersión y en la plasticidad fenotípica, los que a su vez, no necesariamente son mutuamente excluyentes (Pulido & Berthold, 2004). Un fuerte impacto negativo del cambio climático puede ocurrir cuando se produce una desincronización entre el ciclo de vida del insecto y la fenología de la planta hospedante (Visser & Holleman, 2001). Otro impacto se relaciona con el mayor daño potencial que los insectos plaga podrían causar a los cultivos agrícolas, a través de un incremento en el número de generaciones dentro del mismo ciclo del cultivo. Una mayor tasa de desarrollo implica una disminución en la exposición de las plagas a sus enemigos naturales (parasitoides y predadores) (Jamieson *et al.*, 2012; Terblanche *et al.*, 2015). Por lo expuesto, cabe esperar que ocurran alteraciones en la fenología de *R. nu*, principalmente como consecuencia del incremento en la temperatura media, la que a su vez impactaría directamente en los ciclos de los cultivos, al reducir la duración de las etapas de desarrollo, afectando la interacción insecto plaga- cultivo hospedante.

Capítulo VI



Discusión y Conclusión General

DISCUSIÓN

En la actualidad, la agricultura se enfrenta a un número creciente de desafíos (Doré *et al.*, 2011) ya que debe garantizar la provisión de alimentos, fibras y combustible, reduciendo tanto el uso de insumos como el impacto en el ambiente y la pérdida de biodiversidad (Gaba *et al.*, 2015). La intensificación sustentable (Caviglia, 2007; Mousavi & Eskandari, 2011; Petersen & Snapp, 2015) y la intensificación ecológica (Doré *et al.*, 2011, Gaba *et al.*, 2015) surgen como nuevos paradigmas productivos. En esencia, ambos conceptos no difieren, salvo en relación a la escala en que se analicen. Mientras la intensificación sustentable se focaliza en el cultivo o en el establecimiento agrícola, la intensificación ecológica abarca la complejidad del paisaje (Tiftonell, 2014). Esta última tiene como finalidad incrementar los niveles de rendimiento de los cultivos, minimizando el impacto en el ambiente, a través del manejo de los servicios ecosistémicos proporcionados por la diversidad biológica en sistemas agroproductivos (Bommarco *et al.*, 2013). Desde hace unas décadas la producción agrícola estival de la región pampeana argentina se apoya en el claro predominio de un cultivo: soja (Andriulo *et al.*, 2004; Reboratti, 2010). Entre Ríos no es ajeno a este proceso de mono-producción, que compite y desplaza a otras actividades económicas (Domínguez & Orsini, 2014). Esta simplificación del sistema productivo se traduce en uniformidad del paisaje (Sarandón, 2002), que requiere de la intervención humana constante por medio de insumos, a fin de controlar su funcionamiento (Stupino *et al.*, 2014). Además, en sistemas agrícolas en los que predomina el monocultivo, existe una reducción extrema de la diversidad, tanto específica, como estructural, funcional y fenológica. Esto lleva a que los cultivos, recursos alimenticios de los insectos herbívoros, se encuentren disponibles, combinando una elevada disponibilidad y calidad alimenticia, y fácil localización, lo que a su vez favorece a la ocurrencia de explosiones poblacionales (Paleologos & Flores, 2014).

Los cultivos múltiples y dentro de ellos los intercultivos en surco, contribuyen a la sustentabilidad de los sistemas agrícolas al incrementar la diversidad de especies vegetales, lo que mejora la productividad y reduce el impacto de los invertebrados plaga (Finch & Collier, 2011; Cadoux *et al.*, 2015). Varias hipótesis explican el modo en que los sistemas complejos pueden influir en la dinámica de los fitófagos. Las primeras en enunciarse fueron las hipótesis de los *enemigos naturales* y de la *concentración de los recursos* (Root, 1973). Posteriormente Vandermeer (1989) propuso las hipótesis del *cultivo disruptivo* y la del *cultivo trampa* y recientemente Finch & Collier (2011) plantearon la estrategia *push-pull* y la *teoría parada*

apropiada/inapropiada para explicar el rol de las plantas acompañantes en la regulación de los insectos perjudiciales. Estas hipótesis coinciden en que los cultivos múltiples (p. ej. intercultivos) pueden modificar la herbivoría e interferir en el desarrollo, reproducción y dispersión de las especies plagas o bien favorecer al incremento en la abundancia de los enemigos naturales (Gaba *et al.*, 2015). En este marco, uno de los primeros aspectos abordados en la presente tesis fue el estudio de la preferencia de oviposición de hembras de *Rachiplusia nu* en intercultivo soja-girasol y en los respectivos cultivos puros, en condiciones naturales.

Dentro de las interacciones cultivo agrícola-herbívoro plaga, la selección de la hembra por el sitio de oviposición es crucial para el éxito reproductivo (Gripenberg *et al.*, 2010; Soler *et al.*, 2012), porque tiene un efecto profundo en el desarrollo y en la supervivencia de la descendencia así como en la permanencia de la población (Cornell & Hawkins, 1995; Wang *et al.*, 2015). De acuerdo a los resultados obtenidos en la tesis (Capítulo II), la hembra de *R. nu* no manifestó un comportamiento de desove preferencial cuando tuvo posibilidades de elegir entre dos plantas hospedantes, girasol y soja. En dos de las tres fechas de siembra consideradas se registró un número más elevado de huevos en intercultivo que en cultivos puros, pero con diferencias estadísticas significativas solo en el último periodo evaluado. En las pruebas de elección, realizadas en condiciones semicontroladas (Capítulo III), se observó una situación similar, aunque menos acentuada que en los ensayos conducidos en el campo. Los resultados obtenidos en ambas situaciones estarían respaldados por la hipótesis de *susceptibilidad por asociación* (SA) (Holmes & Barrett, 1997; Hambäck *et al.*, 2014), en la que las señales emitidas por las plantas de girasol estimularía el desove de *R. nu* en las plantas de soja próximas (Greenberg *et al.*, 2002). En este caso ocurrió un efecto sinérgico entre los cultivos integrantes de la asociación, por lo que no tuvo lugar el patrón más frecuentemente observado en estudios relacionados con sistemas planta-herbívoro, en los que, la presencia del recurso menos preferido disminuye el daño sobre el más preferido (Hambäck & Beckerman, 2003).

La carga de huevos de la hembra es otro factor que condicionaría la selección del hospedante. Con cargas elevadas de oocitos maduros, discrimina menos, destina una menor proporción de su tiempo para buscar a su hospedante preferido y acepta hospedantes de menor preferencia, en comparación con la hembra con poca carga de huevos (Minkenberg *et al.*, 1992). En estas condiciones fisiológicas, la hembra prefiere colocar los huevos en un hospedante subóptimo antes que no desovar (Jallow & Zalucki, 1998), lo que podría haber ocurrido en cultivos puros de soja.

En lo que respecta al hospedante, a otra escala de análisis, determinados factores morfológicos pueden influir en el comportamiento de la hembra, reduciendo la atracción o la preferencia de oviposición. Dentro de ellos, la pubescencia se considera una de las características morfológicas más relevantes relacionada con la resistencia a los insectos (Cunningham & Zalucki, 2014; Schlick-Souza *et al.*, 2017). En esta tesis, la mayor densidad de tricomas en el envés de las hojas de girasol y soja coincidió con la mayor densidad de huevos de *R. nu* por superficie foliar (Capítulo II). En este caso, la pubescencia no sería un atributo morfológico que impida que las hembras desoven, más bien, la preferencia por oviponer en superficies con pilosidad densa podría interpretarse como una estrategia de supervivencia, evitando ser alcanzados por parasitoides oófagos (Shah *et al.*, 2015). Debido a ello, en el Capítulo II se propuso como alternativa de manejo, la siembra de cultivos que presenten hojas glabras. En ellas, la defoliación se reduciría como consecuencia de una menor densidad de desoves, aunque existen antecedentes que indican una supervivencia larval más elevada y un incremento en el consumo foliar en materiales sin pubescencia (Lambert *et al.*, 1992). Ante un mismo carácter, en términos de resistencia, los efectos pueden ser opuestos: pueden interferir en la preferencia de la hembra para oviponer pero no disminuir la defoliación larval o viceversa. Si la preferencia se debe a la reducida habilidad de la hembra para desovar en materiales glabros, entonces este carácter por sí mismo podría ser una estrategia efectiva de resistencia de la planta hospedante, pero si la hembra, en ausencia de hospedantes alternativos desova normalmente, dicho carácter resultaría en un incremento en la susceptibilidad como consecuencia de la ausencia de resistencia a las larvas, la que sería conferida por la pubescencia (Lambert *et al.*, 1992). Para disminuir el impacto de un fitófago plaga, Lambert & Kilen (1984) manifestaron que una opción sería combinar caracteres que confieran la no-preferencia para oviponer (especies glabras) con otros que confieran resistencia larval (p. ej. flavonoides). En este sentido, compuestos como rutina y genisteína juegan un rol importante en la resistencia de las plantas ya que tienen efectos en el desarrollo larval, supervivencia, peso pupal y comportamiento de alimentación en varias especies de importancia económica (Hofmann-Campo *et al.*, 2001; Piubelli *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2016).

El comportamiento de oviposición de *R. nu* en hojas con y sin estrés hídrico fue otro aspecto estudiado en esta tesis (Capítulo III). *R. nu* mostró una marcada preferencia por colocar huevos en hojas sin estrés hídrico en los dos cultivos evaluados, girasol y soja. Posibles cambios en la calidad nutricional de las hojas estresadas condicionó la capacidad selectiva de este lepidóptero. Este

comportamiento, característico de insectos folívoros (Larsson, 1989), se enmarcaría en la hipótesis de planta vigorosa (Price, 1991).

En condiciones semicontroladas, los resultados obtenidos en esta tesis coinciden con las predicciones de la teoría de preferencia de oviposición-desempeño de descendientes (Jaenike, 1978). Las tasas de desarrollo larval y pupal y el peso de las pupas fueron superiores en larvas que se alimentaron de hojas de girasol en relación a aquellas que consumieron folíolos de soja (Capítulo III). En condiciones de campo, como se manifestó en párrafos anteriores, la preferencia de oviposición fue más bien débil. La hembra, al momento de desovar, debe enfrentar una serie de factores estresantes. No solamente debe evaluar la disponibilidad y la calidad de la planta hospedante como alimento para su progenie, sino que también debe considerar los posibles riesgos de mortalidad debido al microhábitat y a los enemigos naturales (Wiklund, 1984; Thompson & Pellmyr, 1991; Scheirs *et al.*, 2000; Janz, 2002). Una pobre correlación entre preferencia-desempeño puede categorizarse como “errores en la oviposición”, lo que ocurre normalmente en especies cuyas larvas son muy móviles, por lo que son capaces de seleccionar por ellas mismas su recurso alimenticio óptimo (Berdegué *et al.*, 1998; Xue & Yang, 2008). Sin embargo, los estudios sobre selección del hospedante por los insectos herbívoros se basan fundamentalmente en el comportamiento de los adultos. Las hembras se desplazan a mayores distancias que las larvas de su progenie, por lo que se asume que la selección del sitio de oviposición descansa primariamente en los adultos (Soler *et al.*, 2009). Las hembras durante su vuelo pueden enfrentarse a diferentes fuentes alimenticias por lo que se activarían los mecanismos de selección, mientras que las larvas, en condiciones naturales, no siempre tienen diferentes opciones (Soler *et al.*, 2012), como lo que sucedería si se desarrollaran dentro de parches con monocultivo. El intercultivo, en cambio, les ofrece a las larvas la oportunidad de seleccionar el mejor alimento. En el proceso de selección de la planta hospedante los roles serían diferentes, mientras la hembra selecciona el parche de especies de plantas, las larvas seleccionan dentro del parche, que previamente fue seleccionado por su madre (Soler *et al.*, 2012). En el contexto del intercultivo cobraría relevancia el principio “*la progenie elige mejor*” (Gómez Jiménez *et al.*, 2014) en contraposición a “*las madres eligen mejor*” (Thompson, 1988), dando cuenta que no siempre la madre realiza una correcta selección del hospedante, tal que le garantice la supervivencia de su descendencia (Soler *et al.*, 2012).

Para los insectos herbívoros la calidad de la planta hospedante puede comprometer el desempeño de la generación actual y futura, lo que se conoce como “efectos maternos” (Bernardo, 1996). Si bien estos efectos son de naturaleza

ubicua, en lepidópteros de importancia agrícola son escasos los antecedentes de la influencia de la dieta de la madre en el desempeño de la descendencia (Mousseau & Fox, 1998; Zehnder, 2006). Los resultados de esta tesis evidenciaron que el alimento consumido por los progenitores afectó el desempeño de la generación filial, en términos de tasas de desarrollo y peso pupal. El mejor desempeño se alcanzó cuando progenitores y descendientes consumieron girasol, reflejado en menor tiempo de desarrollo, mayor supervivencia y peso de las pupas (Capítulo IV).

La temperatura es el factor abiótico que regula la tasa de desarrollo de los insectos (Honěk *et al.*, 2002). De acuerdo a los resultados de esta tesis, la temperatura y la dieta condicionaron las tasas de desarrollo de *R. nu*, aunque la diferencia proporcional de tasas de desarrollo entre dietas no fue la misma a las temperaturas evaluadas, por lo que no se cumplió el principio de tasa de desarrollo isomórfica (Van Rijn *et al.*, 1995; Jarošík *et al.*, 2002; Boukal *et al.*, 2015). A una misma temperatura, las tasas de desarrollo larval, pupal y total fueron superiores en aquellos individuos alimentados con girasol en relación con los que consumieron folíolos de soja. Estas diferencias de velocidad de desarrollo, condicionadas por las temperaturas, limitarían las ventajas productivas del intercultivo girasol-soja en lo que respecta al manejo de *R. nu* (Capítulo V).

En el contexto de la intensificación agrícola, cuando se promueve la adopción de una determinada tecnología, como el intercultivo, se señala como ventaja el uso más eficiente de los recursos (agua, luz, nutrientes) y consecuentemente las investigaciones se orientan a robustecer las potencialidades de este sistema productivo, con una mirada enfocada en la fisiología de los cultivos intervinientes (Caviglia *et al.*, 2004; Calviño, 2005), sin considerar otros aspectos que pueden ser relevantes, como la incidencia de las plagas. En lo que respecta a intercultivo girasol-soja, se disponen de pocos estudios (Debaeke *et al.*, 2017), principalmente basados en experiencias realizadas en África (Olowe & Adebipe, 2009), Asia (Shivaramu & Shivashankar, 1992; Mousavi & Eskandari, 2011) y América del Sur (Calviño & Monzón, 2009; Caviglia & Andrade, 2010; Coll *et al.*, 2012). En Argentina, existe un único antecedente en lo que respecta a los insectos asociados al intercultivo girasol-soja (De La Fuente *et al.* 2014). Este vacío de información se traduce en una débil integración de los factores bióticos y abióticos que podrían limitar los beneficios agronómicos de este sistema de cultivo.

Los fitófagos plaga son parte de los agroecosistemas, por lo que se necesita comprender su funcionamiento y las interacciones ecológicas que ocurren en el mismo a fin de priorizar estrategias que tiendan a conservar y aumentar los enemigos

naturales y a modificar la calidad del recurso para que sea menos preferido por las plagas (Paleologos & Flores, 2014).

Una práctica poco explorada dentro del MIP es el control cultural de las plagas, el que se define como una alteración en el sistema de producción con el objetivo de reducir la colonización del cultivo por la plaga o evitar su daño económico (Kogan, 1986). Las prácticas culturales incluyen: el manejo de la fecha de siembra, la modificación de la densidad de las plantas, la rotación de cultivos y el intercultivo, entre otras (Abate *et al.*, 2000; Zehnder *et al.*, 2007).

Los resultados obtenidos en esta tesis sugieren que el intercultivo girasol-soja no sería una buena estrategia cultural para disminuir el impacto de *R. nu* por las razones que se sintetizan a continuación. (I) La combinación de dos hospedantes de *R. nu* como integrantes de la asociación favorece la oviposición de la hembra de este lepidóptero, en comparación con los respectivos cultivos puros. Para que esta práctica sea exitosa, uno de los cultivos asociados en la intersiembra debe ser no-hospedante de la plaga que se requiere manejar o al menos debe haber una preferencia muy marcada por el otro componente de la mezcla (Mousavi & Eskandari, 2011; Afrin *et al.*, 2017). (II) La mejor calidad nutricional del girasol implica menor tiempo de desarrollo y mayor peso de las pupas de *R. nu*, con el consecuente impacto en la fecundidad. Las larvas que se originen en soja, por la proximidad espacial y la capacidad de desplazamiento, podrían completar su desarrollo en girasol, garantizando su supervivencia. (III) En concordancia con la teoría de los efectos maternos, el sistema de intercultivo que involucre ambas especies vegetales, favorecería el desempeño de generaciones consecutivas de *R. nu* en comparación con cultivos puros de girasol y soja.

Para el intercultivo girasol-soja se obtuvieron valores de hasta 1,24 de Equivalente en el Uso de la Tierra (LER¹) (Coll *et al.*, 2012). En términos de productividad física, al superar la unidad, la realización de este sistema de cultivo está justificado (Caviglia *et al.*, 2004), aunque desde el punto de vista del manejo de *R. nu*, no sería recomendable, al menos con el arreglo espacial propuesto. Las consecuencias de no estudiar en forma integrada los diferentes factores que intervienen en los procesos productivos pueden dar lugar a resultados opuestos e indeseados.

El girasol se considera un cultivo “amigable con el ambiente” (“*environmental-friendly crop*”) (Blanchet, 1992) porque requiere una menor cantidad de insumos para

¹LER indica cuanta superficie hubiera sido necesaria para obtener con los cultivos individuales el mismo rendimiento obtenido en una unidad de superficie con el cultivo múltiple (Francis, 1986).

su producción (p. ej. fertilizante nitrogenado y fitosanitarios) y por su potencial para proveer de servicios ecosistémicos en sistemas de cultivos diversos (fuente de polen y néctar) (Franco *et al.*, 2016), por lo que debería promocionarse su siembra en intercultivo con especies de otras familias botánicas (p. ej. gramíneas). Esto abre nuevas líneas de investigación que permitan determinar la mejor combinación de especies y las proporciones más adecuadas de los cultivos asociados para el manejo de *R. nu.*

CONCLUSIONES

Las principales conclusiones de la presente tesis son las siguientes:

- Esta tesis aporta los primeros conocimientos sobre el comportamiento selectivo de *R. nu* cuando dispone de dos de sus principales hospedantes y, del desempeño de las larvas en relación al efecto combinado de la temperatura y del tipo de alimento consumido.
- En determinadas fechas de siembra, la densidad de huevos de *R. nu* es mayor en intercultivo que en cultivos puros.
- En condiciones de campo no se observa un comportamiento de desove diferencial. En el sistema de intercultivo, la presencia de plantas de girasol podría estimular el desove de *R. nu* en folíolos de soja.
- En girasol y en soja, los huevos de *R. nu* se ubican predominantemente en la cara inferior de la hoja, coincidente con la mayor densidad de tricomas.
- En condiciones semicontroladas *R. nu* demuestra una marcada preferencia por desovar en hojas de girasol que en folíolos de soja.
- El contenido hídrico de las hojas de girasol y de los folíolos de soja condiciona la capacidad selectiva de *R. nu*. Las hojas de ambos cultivos sin estrés hídrico son seleccionadas por *R. nu* para desovar, en comparación con las que presentan este tipo de estrés.
- En condiciones semicontroladas se observa una correlación positiva entre preferencia de oviposición de las hembras de *R. nu* y el desempeño de los descendientes, en términos de tasa de desarrollo y peso pupal.
- La dieta materna de *R. nu* afecta la tasa de desarrollo, la supervivencia y el peso de las pupas de la generación filial. Las larvas que consumen hojas de girasol en generaciones consecutivas (parental y filial) presentan mayores tasas de desarrollo larval, supervivencia y pesos pupales que aquellas larvas que se alimentan con folíolos de soja.
- La interacción entre la dieta y la temperatura es significativa, por lo que el tipo de alimento ingerido por las larvas de *R. nu* y la temperatura influyen en las tasas de desarrollo en los periodos larval, pupal y total.
- Para valorar la relevancia de la diversidad vegetal en la dinámica de *R. nu*, además de los conocimientos aportados en esta tesis, se requiere estudiar en forma conjunta otros aspectos que intervienen en la toma de decisiones de los fitófagos, en relación a la utilización de los recursos en los agroecosistemas,

tales como los factores de regulación natural. El desafío debe orientarse hacia la búsqueda de alternativas sustentables que compatibilicen la producción agrícola con el manejo ecológico de las plagas insectiles.



BIBLIOGRAFÍA CITADA

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Abate, T., Van Huis, A., & Ampofo, J.K.O. (2000) Pest management strategies in traditional agriculture: an african perspective. *Annual Review of Entomology*, **45**, 631-659.
- Abdullah, M., Sarnthoy, O., & Chaeychomsri, S. (2000) Comparative study of artificial diet and soybean leaves on growth, development and fecundity of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Kasetsart Journal (Natural Science)*, **34**, 339-344.
- Adami, M., Hastenreiter, F.A., Flumignan, D.L., & Faria, R.T.D. (2008). Soybean leaflet area estimation using digital imagery and leaf dimensions. *Bragantia*, **67(4)**, 1053-1058.
- Afrin, S., Latif, A., Banu, N.M.A., Kabir, M.M.M., Haque, S.S., Ahmed, M.E., Tonu, N.N., & Ali, M.P. (2017). Intercropping empower reduces insect pests and increases biodiversity in agro-ecosystem. *Agricultural Sciences*, **8(10)**, 1120-1134.
- Agboka, K., Gounou, S., & Tamo, M. (2006) The role of maize-legumes-cassava intercropping in the management of maize ear borers with special reference to *Mussidia nigrivenella* Ragonot (Lepidoptera: Pyralidae). *Annales de la Société Entomologique de France*, **42(3-4)**, 495-502.
- Aguirrezábal, L.A.N., Orioli, G.A., Hernández, L.F., Pereyra, V.R., & Miravé, J.P. (2001) Girasol. Aspectos fisiológicos que determinan el rendimiento. *Unidad Integrada INTA-Balcarce*. 111 p.
- Agrawal, A. (2001) Transgenerational consequences of plant responses to herbivory: an adaptive maternal effects? *American Naturalist*, **157**, 555-569.
- Agrell, J., Anderson, P., Oleszek, W., Stochmal, A., & Agrell, C. (2006). Elevated CO₂ levels and herbivore damage alter host plant preferences. *Oikos*, **112**, 63-72.
- Aikman, D., & Hewitt, G. (1972) An experimental investigation of the rate and form of dispersal in grasshoppers. *Journal of Applied Ecology*, **9**, 807-817.
- Aktar, W., Sengupta, D., & Chowdhury, A. (2009) Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdisciplinary Toxicology*, **2(1)**, 1-12.
- Ali, A., Luttrell, R.G., & Schneider, J.C. (1990) Effects of temperature and larval diet on development of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Annals of the Entomological Society of America*, **83(4)**, 725-733.
- Ali, J.G., & Agrawal, A.A. (2012) Specialist versus generalist insect herbivores and plant defense. *Trends in Plant Science*, **17(5)**, 293-302.
- Altieri, M.A., & Nicholls, C.I. (2004). *Biodiversity and pest management in agroecosystems*. Boca Raton, CRC Press, NY USA.
- Altieri, M.A., & Nicholls, C.I. (2007) *Biodiversidad y manejo de plagas en agroecosistemas*. Icaria, Barcelona, España.
- Amarillo-Suárez, A.R., & Fox, C.W. (2006) Population differences in host use by a seed-beetle: local adaptation, phenotypic plasticity and maternal effects. *Oecologia*, **150(2)**, 247-258.
- Ampong-Nyarko, K., Seshu Reddy, K.V., Nyang'or, R.A., & Saxena, K.N. (1994) Reduction of insect pest attack on sorghum and cowpea by intercropping. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **70**, 179-184.

- Ampong-Nyarko, K., Seshu Reddy, K.V., & Saxena, K.N. (1995) Mechanisms of low insect pest incidence in intercropping: *Chilo partellus* oviposition on non-host plant cowpea. *En: Proceedings of the 10th Meeting and Scientific Conference of the African Association of insect Scientists* 5–10 September 1993, Mombasa, Kenya. pp. 103–108.
- Anders, M.M., Potdar, M.V., & Francis, C.A. (1996) Significance of Intercropping in Cropping Systems. *Roots and nitrogen in cropping systems of the semi-arid tropics*. (ed. Osamu, I., Johansen, C., Adu-Gyamfi, J.J., Katayam, K., Kumar Rao, J.V.D.K., & Rego, T. J.) pp. 1-18. JIRCAS International Agriculture.
- Anderson, P., & Anton, S. (2014) Experience-based modulation of behavioural responses to plant volatiles and other sensory cues in insect herbivores. *Plant, Cell & Environment*, **37**, 1826-1835.
- Andow, D. (1983) Effect of agricultural diversity on insect populations. *Environmentally sound agriculture*. (ed. Lockeretz, W.), pp. 91-115. Praeger, New York.
- Andrade, F.H., & Sadras, V.O. (2002) Efectos de la sequía sobre el crecimiento y rendimiento de los cultivos. *Bases para el manejo del maíz, el girasol y la soja*. (ed. Andrade, F.H., & Sadras, V.O.), pp.175-210. Producciones gráficas Sirio.
- Andreotti, G., Koutros, S., Hofmann, J.N., Sandler, D.P., Lubin, J.H., Lynch, C.F., Lerro, C.C., De Roos, A.J. *et al.* (2017) Glyphosate use and cancer incidence in the Agricultural Health Study. *Journal of the National Cancer Institute*, **110(5)**, 509-516.
- Andrews, D.J., & Kassam, A.H. (1976) The importance of multiple cropping in increasing world food supplies. *Multiple Cropping*. (ed. Papendick, R.I., Sanchez P.A., & Tripelitt, G.B.), pp.1-10. American Society of Agronomy, Spec.
- Andriulo, A., Sasal, C., & Portela, S. (2004) Impacto Ambiental de la Agricultura Pampeana. *IDIA*, **XXI**, 80-84.
- Angulo, A.O., & Weigert, G.Th. (1974) *Estados inmaduros de lepidópteros noctuidos de importancia económica en Chile y claves para su determinación (Lepidoptera: Noctuidae)*. Sociedad de Biología de Concepción. Chile.
- Aragón, J.R, Molinari, A., & Lorenzatti, S. (1997) Manejo integrado de plagas. *El cultivo de la soja en Argentina*. (ed. Giorda, L.M., & Baigorri, H.E.), pp. 248-288. INTA. Centro Regional Córdoba EEA Marcos Juárez - EEA Manfredi.
- Aragón, J.R. (2003) *Plagas principales del girasol en la provincia de Córdoba, Argentina*. Apunte preparado para el Curso de Postgrado Manejo Integrado de Plagas bajo Siembra Directa y efectos sobre la fauna de suelo. Facultad de Agronomía UBA-INTA EEA Pergamino. 6 p.
- Arbab, A., Kontodimas, D.C., & Sahragard, A. (2006) Estimating development of *Aphis pomi* (DeGeer) (Homoptera: Aphididae) using linear and nonlinear models. *Environmental Entomology*, **35(5)**, 1208-1215.
- Artigas, J.N. (1972) Ritmos poblacionales en lepidópteros de interés agrícola para Chile. *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción*, **45**, 38-41.
- Arts, G.H., Dollinger, M., Kohlschmid, E., Maltby, L., Ochoa-Acuña, H., & Poulsen, V. (2015) An ecosystem services approach to pesticide risk assessment and risk management of non-target terrestrial plants: recommendations from a SETAC Europe workshop. *Environmental Science and Pollution Research*, **22(3)**, 2350-2355.

- Aschenbrenner, A.K., Horakh, S., & Spring, O. (2013) Linear glandular trichomes of *Helianthus* (Asteraceae): morphology, localization, metabolite activity and occurrence. *AoB Plants* 5: plt028; doi:10.1093/aobpla/plt028.
- Ásman, K., & Ekblom, B. (2006) Responses of ovipositing moths to host plant deprivation: life history aspects and implications for intercropping. *Agricultural and Forest Entomology*, **8**, 213-219.
- Ávalos, S., Mazzuferi, V., La Porta, N., Serra, G., & Berta, C. (2004) El complejo parasítico (Hymenoptera y Diptera) de larvas de *Anticarsia gemmatilis* Hüb. y *Rachiplusia nu* Guen. (Lepidoptera: Noctuidae) en alfalfa y soja. *Agriscientia*, **XXI (2)**, 67-75.
- Ávila, M.N., Mercado Cardenas, G.E., Berrueto, L., & Chocobar, A. (2015) Primer registro de *Rachiplusia nu* en el cultivo de tabaco (*Nicotiana tabacum*) en el Valle de Lerma, Salta. En: *IX Congreso Argentino de Entomología*. Posadas. Misiones. p. 398.
- Awmack, C.S., & Leather, S.R. (2002) Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology*, **47**, 817-844.
- Azerefegne, F., & Solbreck, C. (2010) Oviposition preference and larval performance of the sweet potato butterfly *Acraea acerata* on *Ipomoea* species in Ethiopia. *Agricultural and Forest Entomology*, **12**, 161-168.
- Azidah, A.A., & Sofian-Azirun, M. (2006) Fecundity study of *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) on various host plants. *Journal of Entomology*, **3(3)**, 261-266.
- Baez, A., & Massolo, M. (1982) Biología e ingesta de la "isoca medidora del girasol" *Rachiplusia nu* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). Boletín Técnico. Chacra Experimental de Barrow. *Serie Insectario*, **1**, 5 p.
- Bale, J.S., Masters, G.J., Hodkinson, I.D., Awmack, C., Martijn Bezemer, T., Brown, V.K., Butterfield, J., Buse, A., Coulson, J.C., et al. (2002) Herbivory in global climate change research: direct effects of rising temperature on insect herbivores. *Global Change Biology*, **8**, 1-16.
- Ballabeni, P., Włodarczyk, M., & Rahier, M. (2001) Does enemy-free space for eggs contribute to a leaf beetle's oviposition preference for a nutritionally inferior host plant? *Functional Ecology*, **15**, 318-324.
- Balzarini, M., Macchiavelli, R., & Casanoves, F. (2004) Aplicaciones de modelos mixtos en agricultura y forestería. *Curso de Capacitación*, 189 pp. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza-CATIE.
- Bapatla, K.G., Patil, R.H., & Yeddula, S. (2018) Impact of leaf damage by defoliators on yield of soybean as a sole crop and as a main crop in intercropping systems. *International Journal of Pest Management*, **64(1)**, 51-58.
- Barbagelata, P.A., & Melchiori, R.J.M. (2007) Balance de nutrientes en campos agrícolas de la provincia de Entre Ríos. *Agricultura Sustentable en Entre Ríos*. (ed. Caviglia, O.P., Papparotti, O.F., & Sasal, M.C.), pp. 89-94. Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina.
- Barbosa, P., Hines, J., Kaplan, I., Martinson, H., Szczepaniec, A., & Szendrei, Z. (2009) Associational resistance and associational susceptibility: having right or wrong neighbors. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **40**, 1-20.
- Barbut, J. (2008). Révision du genre *Rachiplusia* Hampson, 1913 (Lepidoptera, Noctuidae, Plusiinae). *Bulletin de la Société Entomologique de France*, **113(4)**, 445-452.

- Barfield, C.S., & Ashley, T.R. (1987) Effects of corn phenology and temperature on the life cycle of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomologist*, **70**(1), 110-116.
- Barrionuevo, M.J. (2011) Redescrición de los estados preimaginales de *Rachiplusia nu* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, **70** (3-4), 169-184.
- Barrionuevo, M.J., Murúa, M.G., Goane, L., Meagher, R., & Navarro, F. (2012) Life table studies of *Rachiplusia nu* (Guenée) and *Chrysodeixis* (= *Pseudoplusia*) *inclusens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) on artificial diet. *Florida Entomologist*, **95**(4), 944-951.
- Barros, E.M., Torres, J.B., & Bueno, A.F. (2010). Oviposição, desenvolvimento e reprodução de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros de importância econômica. *Neotropical Entomology*, **39**(6), 996-1001.
- Bavaresco, A., García, M.S., Grützmacher, A.D, Foresti, J., & Ringenberg, R. (2002) Biología e exigencias térmicas de *Spodoptera cosmioides* (Walk.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Neotropical Entomology*, **31**(1), 49-54.
- Beck, S.D. (1967) Water intake and the termination of diapause in the european corn borer, *Ostrinia nubilalis*. *Journal of Insect Physiology*, **13**, 739-750.
- Behmer, S.T. (2009) Insect herbivore nutrient regulation. *Annual Review of Entomology*, **54**, 165-187.
- Belmonte, M.L., & Baudino, E.M. (2009) *Relevamiento de artrópodos que afectan al cultivo de soja Glycine max* (L.) Merr. en la provincia de La Pampa. 3 pp.
- Bender, D.A., Morrison, W.P., & Frisbie, R.E. (1999) Intercropping cabbage and indian mustard for potential control of lepidopterous and other insects. *HortScience*, **34**(2), 275-279.
- Bento, J.M.S., & Nardi, C. (2009) Bioecología e nutrição vs ecología química: as interações multitróficas mediadas por sinais químicas. Bioecología e nutrição de insetos. Base para o manejo integrado de pragas. (ed. Panizzi, A.R., & Parra, J.R.P.), pp. 277- 286. EMBRAPA Informação Tecnológica. Brasília, DF.
- Benton, T.G., Ranta, E., Kaitala, V., & Beckerman, A.P. (2001) Maternal effects and the stability of population dynamics in noisy environments. *Journal of Animal Ecology*, **70**, 590-599.
- Benton, T.G., Vickery, J.A., & Wilson, J.D. (2003) Farmland biodiversity: is habitat heterogeneity the key? *Trends in Ecology & Evolution*, **18**(4), 182-188.
- Benton, T.G., Plaistow, S.J., Beckerman, A.P., Lapsley, C.T., & Littlejohns, S. (2005) Changes in maternal investment in eggs can affect population dynamics. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **272**, 1351-1356.
- Berdegúe, M., Reitz, S.R., & Trumble, J.T. (1998) Host plant selection and development in *Spodoptera exigua*: do mother and offspring know best?. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **89**(1), 57-64.
- Bergamini, L.L. (2013) Seleção de recursos por duas espécies de besouros bruquíneos do gênero *Gibbibruchus* na planta hospedeira *Bauhinia curvula* Benth. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Goiás como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução para a obtenção do título de Mestre. 56 pp.
- Bergman, J.M., & Tingey, W.M. (1979) Aspects of interaction between plant genotypes and biological control. *Bulletin of the Entomological Society of America*, **25**, 275-279.

- Bernard, W.S., & Robin, L. (1984) Influence of food quality and temperature on life history characteristics of the parthenogenetic mayfly, *Cloeon triangulifer*. *Freshwater Biology*, **14**, 621-630.
- Bernardo, J. (1996) Maternal effects in animal ecology. *American Zoologist*, **36**, 83-105.
- Bernays, E.A., & Chapman, R.F. (1994) Host-plant selection by phytophagous insects. Chapman & Hall, New York.
- Bernays, E.A. (2001) Neural limitations in phytophagous insects: implications for diet breadth and evolution of host affiliation. *Annual Review of Entomology*, **46**(1), 703-727.
- Berta, C., Colomo, M.V., Valverde, L., Romero Sueldo, M., & Dode, M. (2009) Aportes al conocimiento de los parasitoides de larvas de Noctuidae (Lepidoptera) en el cultivo de soja en Tucumán, Argentina. *Acta Zoológica Lilloana*, **53**(1-2), 16-20.
- Bhat, N.W., & Bhattacharya, K. (1978) Consumption and utilization of soybean by *Spodoptera litura* (Fabricius) at different temperatures. *Indian Journal of Entomology*, **40**, 16-25.
- Bhattacharyya, P.K., & Ram, H.H. (2001) Pubescence as plant resistance character against *Spilosoma obliqua* Walker in the interspecific crosses of soybean. *Tropical Agricultural Research & Extension*, **4**(1), 20-23.
- Bilde, T., & Toft, S. (2000) Evaluation of prey for the spider *Dicymbium brevisetosum* Locket (Araneae: Linyphiidae) in single-species and mixed-species diets. *Etológica (Bratislava)*, **19**(3), 9-18.
- Bittencourt-Rodrigues, R. de S., & Zucoloto, F.S. (2005) Efeitos da idade do hospedeiro na oviposição e performance de *Ascia monuste* Godart (Lepidoptera: Pieridae). *Neotropical Entomology*, **34**(2), 169-175.
- Björkman, M. (2007) Effects of intercropping on the life cycle of the turnip root fly (*Delia floralis*). Behaviour, natural enemies and host plant quality. *Doctoral Thesis*. 42 pp. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala.
- Blanchet, R. (1992) Tournesol: une culture pour l'environnement. *Oléoscope*, **9**, 10-11.
- Boege, K., & Marquis, R.J. (2005) Facing herbivory as you grow up: the ontogeny of resistance in plants. *Trends in Ecology and Evolution*, **20**(8), 441-448.
- Bommarco, R., Miranda, F., Bylund, H., & Björkman, C. (2011) Insecticides suppress natural enemies and increase pest damage in cabbage. *Journal of Economic Entomology*, **104**(3), 782-791.
- Bommarco, R., Kleijn, D., & Potts, S.G. (2013) Ecological intensification: harnessing ecosystem services for food security. *Trends in Ecology & Evolution*, **28**(4), 230-238.
- Boots, M., & Roberts, K.E. (2012) Maternal effects in disease resistance: poor maternal environment increases offspring resistance to an insect virus. *Proceedings of the Royal Society*, **279**, 4009-4014.
- Bortoli, S.A., Dória, H.O.S., Albergaria, N.M.M.S., Murata, A.T., & Vescove, H.V. (2005) Aspectos biológicos e nutricionais de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) em soja, amendoim e dieta artificial. *Boletín de Sanidad Vegetal- Plagas*, **31**, 171-178.
- Boserup, E. (1965) *The Conditions of Agricultural Growth: The Economics of Agrarian Change under Population Pressure*. pp. 8-14. Allen, G., & Unwin Ltd. Ruskin House Museum Street. London.

- Boserup, E. (1991) Agricultural growth and population change. *The World of Economics*. (ed. Eatwell, J., Milgate, M., & Newman, P.). pp. 1-14. The New Palgrave. The Macmillan Press Limited. London.
- Boukal, D.S., Ditrich, T., Kutcherov, D., Sroka, P., Dudová, P., & Papáček, M. (2015) Analyses of developmental rate isomorphy in ectotherms: introducing the Dirichlet regression. *PloS one*, **10(6)**, e0129341.
- Bravo, J.I.S., & Zucoloto, F.S. (1997) Oviposition preference and larval performance in *Ceratitis capitata* (Díptera, Tephritidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, **14(4)**, 795-802.
- Brière, J.F., Pracros, P., Le Roux, A.Y., & Pierre, J.S. (1999) A novel rate model of temperature-dependent development for arthropods. *Environmental Entomology*, **28**, 22-29.
- Brodbeck, B., & Strong, D. (1987) Amino acid nutrition of herbivorous insects and stress to host plants. *Insect Outbreaks*. (ed. Barbosa, P., & Schultz, J.C), pp. 346-364. Academic Press England.
- Brodeur, J.C. (2010) La soja y sus agroquímicos: evaluando impactos en anfibios. *Aspectos ambientales del uso de glifosato*. (ed. Camino, M., & Aparicio, V.), pp. 69-76. Ediciones INTA, Buenos Aires, Argentina.
- Broersma, D.B., Bernard, R.L., & Luckman, W.H. (1972) Some effects of soybean pubescence on populations of the potato leafhopper. *Journal of Economic Entomology*, **65(1)**, 78-82.
- Brown, B.J., & Ewel, J.J. (1987) Herbivory in complex and simple tropical successional ecosystems. *Ecology*, **68(1)**, 108-116.
- Bussis, D., & Heineke, D. (1998) Acclimation of potato plants to polyethylene glycol-induced water deficit. II. Contents and subcellular distribution of organic solutes. *Journal of Experimental Botany*, **49**, 1361-1370, 1460-2431.
- Butler, Jr. G.D., Stinner, R.E., & Greene, G.L. (1976) Application of a thermodynamic model for the development of nymphs of the cabbage looper (Lepidoptera: Noctuidae) at fluctuating temperatures. *Florida Entomologist*, **59(2)**, 165-169.
- Butter, N.S., & Vir, B.K. (1989) Morphological basis of resistance in cotton to the whitefly *Bemisia tabaci*. *Phytoparasitica*, **17(4)**, 251-261.
- Cáceres, C.M., Lago, M.E., Cerrudo, A., & Coll, L. (2007) Efecto del intercultivo sobre enfermedades de soja y girasol. *En: 4^{to} Congreso Argentino de Girasol ASAGIR*. Buenos Aires, Argentina. pp. 371-372.
- Cáceres, S., Miño, V.S., & Aguirre, A. (2011) *Guía práctica para la identificación y el manejo de las plagas del pimiento*. INTA EEA Bella Vista, Corrientes. Ediciones INTA 79 pp.
- Cadoux, S., Sauzet, G., Valantin-Morison, M., Pontet, C., Champolivier, L., Robert, C., Lleven, J., Flénet, F., Mangelot, O., et al. (2015) Intercropping frost-sensitive legume crops with winter oilseed rape reduces weed competition, insect damage, and improves nitrogen use efficiency. *Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, **22(3)**, D302.
- Calatayud, P.A., Polania, M.A., Seligmann, C.D., & Bellotti, A.C. (2002) Influence of water-stressed cassava on *Phenacoccus herreni* and three associated parasitoids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **102**, 163-175.
- Calviño, P.A. (2005) Las quince novedades de la ciencia y el girasol y su aplicación a corto, mediano y largo plazo. Conclusiones Taller ASAGIR sobre Fisiología. 3° Congreso Argentino de Girasol. Disponible en: <http://www.asagir.com.ar>

- Calviño, P.A., & Monzon, J. (2009) Farming systems of Argentina: yield constraints and risk management. *Crop Physiology Applications for Genetic Improvement and Agronomy*. (ed. Sadras, V., & Calderini, D.), pp. 55-70. Academic Press.
- Campbell A., Frazer, B.D., Gilbert, N., Gutierrez, A.P., & Mackauer, M. (1974) Temperature requirements of some aphids and their parasites. *Journal of Applied Ecology*, **11**, 431-438.
- Campos, W.G., Schoereder, J.H., & Picanço, M.C. (2003) Performance of an oligophagous insects in relation to the age of the host plant. *Neotropical Entomology*, **32(4)**, 671-676.
- Campos, W.G., Schoereder, J.H., & Sperber, C.F. (2004). Does the age of the host plant modulate migratory activity of *Plutella xylostella*? *Entomological Science*, **7**, 323-329.
- Capinera, J.L., Weissling, T.J., & Schweizer, E.E. (1985) Compatibility of intercropping with mechanized agriculture: effects of strip intercropping of pinto beans and sweet corn on insect abundance in Colorado. *Journal of Economic Entomology*, **78**, 354-357.
- Carrasco, A.E., Sánchez, N.E., & Tamagno, L.E. (2012) Modelo agrícola e impacto socio-ambiental en la Argentina: monocultivo y agronegocios. AUGM-Comité de Medio Ambiente. *Serie Monográfica Sociedad y Ambiente: Reflexiones para una nueva América Latina*. SeDiCI. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/24722/Documento_completo_.pdf?sequence=3
- Carrière, Y., Ellers-Kirk, C., Liu, Y.B., Sims, M.A., Patin, A.L., Dennehy, T.J., & Tabashnik, B.E. (2001) Fitness cost and maternal effects associated with resistance to transgenic cotton in the pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Economic Entomology*, **94(6)**, 1571-1576.
- Carriquiriborde, P. (2010) Toxicidad de glifosato en peces autóctonos: Estudios de laboratorio y campo. *Aspectos ambientales del uso de glifosato*. (ed. Camino, M., & Aparicio V.), pp. 57-68. Ediciones INTA, Buenos Aires, Argentina.
- Casmuz, A., Juárez, M.L., Socías, M.G., Murúa, M.G., Prieto, S., Medina, S., Willink, E., & Gastaminza, G. (2010) Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, **69(3-4)**, 209-231.
- Casmuz, A., Scalora, F., Cazado, L., Socías, G., Tolosa, G., Aralde, M., Aybar Guchea, L., Fadda, M., Gómez, H., *et al.* (2012) Evaluación de diferentes insecticidas para el control de orugas defoliadoras en soja, con énfasis en el complejo de medidoras. EEAOC, Tucumán. *Publicación Especial*, **45**, 155-161.
- Caviglia, O.P., Sadras, V.O., & Andrade, F.H. (2004) Intensification of agriculture in the south-eastern Pampas I: capture and efficiency in the use of water and radiation in double-cropped wheat-soybean. *Field Crops Research*, **87**, 117-129.
- Caviglia, O.P. (2007) Intensificación de la secuencia de cultivos en Entre Ríos: balance de carbono y aprovechamiento de recursos. *Agricultura sustentable en Entre Ríos*. (ed. Caviglia, O.P., Paparotti, O.F., & Sasal, M.C.), pp. 149-158. Ediciones INTA. Buenos Aires.
- Caviglia, O.P., Van Opstal, N.V., Gregorutti, V.C., Melchiori, R.J.M., & Blanzaco, E. (2008) El invierno: estación clave para la intensificación sustentable de la agricultura. *Serie Extensión INTA EEA Paraná*, **51**, 7-13.
- Caviglia, O.P., & Andrade, F.H. (2010) Sustainable intensification of agriculture in the argentinean pampas: capture and use efficiency of environmental resources. *The Americas Journal of Plant Science and Biotechnology*, **3 (Special Issue 1)**, 1-8.

- Caviglia, O.P., Wingeyer, A.B., & Novelli, L.E. (2016) El rol de los suelos agrícolas frente al cambio climático. Ediciones INTA. *Serie de Extensión INTA Paraná*, **78**, 27-32.
- Cetintas, R., & McAuslane, H. (2009) Effectiveness of parasitoids of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) on cotton cultivars differing in leaf morphology. *Florida Entomologist*, **92**(4), 538-547.
- Clavijo, S., Fernández-Badillo, A., Ramírez, A., Delgado, A., & Lathullerie, J.M. (1991) Influencia de la temperatura sobre el desarrollo de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Agronomía Tropical*, **41**(5-6), 245-256.
- Cohen, R.W. (2001). Diet balancing in the cockroach *Rhyparobia madera*: Does serotonin regulate this behavior?. *Journal of Insect Behavior*, **14**(1), 99-111.
- Cohen, A.C. (2003) Insect diets: science and technology. CRC press.
- Coll, L., Cerrudo, A., Rizalli, R., Monzón, J.P., & Andrade, F.H. (2012) Capture and use of water and radiation in summer intercrops in the south-east Pampas of Argentina. *Field Crops Research*, **134**, 105-113.
- Colombo Da Luz, P.M., Sampaio De Azevedo Filho, W., & Specht, A. (2014) Caracterização morfológica dos estágios imaturos de *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae: Plusiinae) e lista de plantas hospedeiras. *Caderno de Pesquisa, Série Biologia*, **26**(3), 65-76.
- Colomo, M.V., Berta, C., Valverde, L., Romero Sueldo, M., & Dode, M. (2009) Incidencia de parasitoides en larvas de lepidópteros noctuidos en el cultivo de soja en Tucumán, Argentina. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, **35**, 563-569.
- Combs, R.L., & Valerio, J.R. (1980) Biology of the armyworm on four varieties of bermudagrass when held at constant temperatures. *Environmental Entomology*, **9**, 393-396.
- Connor, E.D. (2006) Effects of the light environment on oviposition preference and survival of a leaf-mining moth, *Cameraria hamadryadella* (Lepidoptera: Gracillariidae), on *Quercus alba* L. *Ecological Entomology*, **31**(2), 179-184.
- Conte, A.S., Etchepareborda, M., Marino, M., & Vazquez Róvere, F. (2010) Oleaginización de la Agricultura Argentina. Disponible en: www.laargentinaenmapas.com.ar/.../oleaginizacion_de_la_agricultura_ar
- Cook, S.M., Khan, Z.R., & Pickett, J.A. (2007) The use of push-pull strategies in Integrated Pest Management. *Annual Review of Entomology*, **52**, 375-400.
- Cornelissen, T., Wilson, F.G., & Vasconcellos-Neto, J. (2008) Size does matter: variation in herbivory between and within plants and the plant vigor hypothesis. *Oikos*, **117**, 1121-1130.
- Cornell, H.V., & Hawkins, B.A. (1995) Survival patterns and mortality sources of herbivorous insects: some demographic trends. *American Naturalist*, **145**, 563-59.
- Cortés, E., Venier, F., & Morcos, E. (2012) Alternativas de control de *Rachiplusia nu* (medidora) en el cultivo de soja. INTA UEE San Francisco- Córdoba. *Hoja de Información Técnica*, 6 pp.
- Couret, J., & Benedict, M.Q. (2014) A meta-analysis of the factors influencing development rate variation in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *BMC Ecology*, **14**, 15 pp.
- Craig, T.P., Itami, J.K., & Price, P.W. (1989). A strong relationship between oviposition preference and larval performance in a shoot-galling sawfly. *Ecology*, **70**, 1691-1699.

- Craig, T.P., & Ohgushi, T. (2002) Preference and performance are correlated in the spittlebug *Aphrophora pectoralis* in four species of willow. *Ecological Entomology*, **27**, 529-540.
- Charlet, L.D., Brewer, G.J., & Franzmann, B.A. (1997) Sunflower insects. *Sunflower Technology and Production*. (ed. Schneiter, A.A.), pp. 183-261. American Society of Agronomy, Madison-WI USA.
- Charlet, L.D., Aiken, R.M., Seiler, G.J., Chirumamilla, A., Hulke, B.S., & Knodel, J.J. (2008) Resistance in cultivated sunflower to the sunflower moth (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Agricultural and Urban Entomology*, **25**, 245-257.
- Chagnon, M., Kreutzweiser, D., Mitchell, E.A., Morrissey, C.A., Noome, D.A., & Van Der Sluijs, J.P. (2015) Risks of large-scale use of systemic insecticides to ecosystem functioning and services. *Environmental Science and Pollution Research*, **22(1)**, 119-134.
- Chapman, R.F. (1998) The insects: structure and function. Cambridge University.
- Chiang, H.S., & Norris, D.M. (1985) Expression and stability of soybean resistance to agromyzid beanflies. *Insect Science and its Application*, **6(3)**, 265-270.
- Chidawanyika, F., Midega, C.A.O., Bruce, T.J.A., Duncan, F., Pickett, J., & Khan, Z.R. (2014) Oviposition acceptance and larval development of *Chilo partellus* stemborers in drought-stressed wild and cultivated grasses of East Africa. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **151**, 209-217.
- Chinsembu, K.C. (2012) Indigenous knowledge systems as a platform for biological innovations in Africa. *Journal of Inventions and Discoveries in Biology*, **1(1)**, 12-25.
- CIMA. Centro de Investigaciones del Mar y la Atmósfera (2015). 3^{ra} Comunicación Nacional de Cambio Climático. Disponible en: <http://3cn.cima.fcen.uba.ar/>
- Cunningham, J.P., & Zalucki, M.P. (2014) Understanding Heliothine (Lepidoptera: Heliothinae) pests: what is a host plant?. *Journal of Economic Entomology*, **107(3)**, 881-896.
- Curry, G.L., & Feldman, R.M. (1987) Mathematical foundations of population dynamics. College Station: Published for the Texas Engineering Experiment Station, Texas A&M University System, by Texas A&M University Press.
- Czesak, M.E., & Fox, C.W. (2003) Evolutionary ecology of egg size and number in a seed beetle: genetic trade-off differs between environments. *Evolution*, **57**, 1121-1132.
- Damos, P., & Savopoulou-Soultani, M. (2012) Temperature- driven models for insect development and vital thermal requirements. *Psyche*, 13 pp.
- Debaeke, P., Bedoussac, L., Bonnet, C., Bret-Mestries, E., Seassau, C., Gavaland, A., Raffaillac, D., Tribouillois, H., Véricel, G., & Justes, E. (2017) Sunflower crop: environmental-friendly and agroecological. *Oilseeds & Fats Crops and Lipids*, **24(3)**, 1-12.
- Degri, M.M., Mailafiya, D.M., & Mshelia, J.S. (2014) Effect of intercropping pattern on stem borer infestation in pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.) grown in the Nigerian Sudan Savannah. *Advances in Entomology*, **2**, 82-86.
- De La Fuente, E.B., Suárez, S.A., Lenardis, A.E., & Poggio, S.L. (2014) Intercropping sunflower and soybean in intensive farming systems: Evaluating yield advantage and effect on weed and insect assemblages. *Wageningen Journal of Life Sciences*, **70-71**, 47-52.
- Delisle, J., Mc Neil, J.N., Underhill, E.W., & Barton, D. (1989) *Helianthus annuus* pollen, an oviposition stimulant for the sunflower moth, *Homoesoma electellum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **50**, 53-60.

- De Moraes, C.M., Mescher, M.C., & Tumlinson, J.H. (2001) Caterpillar-induced nocturnal plant volatiles repel conspecific females. *Nature*, **410**, 577-580.
- Dent, D. (2000) Host plant resistance. *Insect Pest Management*. pp. 123-179. CABI Bioscience, UK Centre, Ascot, UK.
- Derridj, S., Gregoire, V., Boutin, J.P., & Fiala, V. (1989) Plant growth stages in the interspecific oviposition preference of the european corn borer and relations with chemicals present on the leaf surfaces. *Entomologia experimentalis et Applicata*, **53(3)**, 267-276.
- Derridj S., Wu, B.R., Stammitti, L., Garrec, J.P., & Derrien, A. (1996) Chemicals on the leaf surface, information about the plant available to insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **80**, 197-201.
- De Silva, D.L., Vásquez, A.S., & Mallet, J. (2011) Selection for enemy-free space: eggs placed away from the host plant increase survival of a neotropical Ithomiine butterfly. *Ecological Entomology*, **36**, 667 – 672.
- Dethier, V.G. (1989) Patterns of locomotion of polyphagous arctiid caterpillars in relation to foraging. *Ecological Entomology*, **14**, 375-386.
- Dhaliwal, G.S., Arora, R., & Heinrichs, E.A. (1998) Insect pest management: from traditional to sustain-able approach. *Critical Issues in Insect Pest Management*. (ed. Dhaliwal, G.S., & Heinrichs, E.A.), pp. 1-25. Commonwealth Publishers, New Delhi.
- Dhaliwal, G.S., Koul, O., & Arora, R. (2004) Integrated Pest Management: Retrospect and Prospect. *Integrated Pest Management: Potential, Constraints and Challenges*. (ed. Dhaliwal, G.S., Koul, O., & Arora, R.), pp. 1-20. CABI.
- Dhandapani, N., & Balasubramanian, M. (1980) Consumption and utilization of different food plants by *Heliothis armigera* (Hubner) (Noctuidae: Lepidoptera). *Entomon*, **5(2)**, 99-103.
- Díaz, M.G., Kuttel, W., López, R., Caviglia, O., Peltzer, H., & Blanzaco, E. (2007) Evaluación de diferentes proporciones de maíz-soja en intercultivo en surcos. En: *Workshop Internacional. Ecofisiología Vegetal Aplicada al Estudio de la Determinación del Rendimiento y la Calidad de los Cultivos de Granos. Primer Encuentro: Red Raíces de Ecofisiología SECyT*. Mar del Plata, Argentina. pp. 64-65.
- Diazaraque, J.M.M. (2006) Modelo de diseños anidados y cruzado-anidados. Apunte de la Asignatura Diseño de Experimentos y Teoría de muestreo. Tema 5. Universidad Carlos III- Madrid España. 29 pp.
- Díaz-Zorita, M., Duarte, G.A., & Plante Díaz-Zorita, E. (2003) El cultivo de girasol. ASAGIR. Disponible en http://www.asagir.org.ar/Publicaciones/cuadernillo_web.pdf
- Diez, S.L., Gamundi, J.C., Mendez, J.M., & Saccone, A.M. (1991a) Evaluación de factores naturales de mortalidad (entomopatógenos y parásitos) en poblaciones de *Rachiplusia nu* (Guenée) (Lep: Noctuidae) en el cultivo de soja. En *II Congreso Argentino de Entomología. I Seminario Latinoamericano de vectores urbanos y animales sinantrópicos. I Reunión Latinoamericana sobre simúlidos*. La Cumbre, Córdoba. Argentina. p. 69.
- Diez, S.L., & Gamundi, J.C. (1991b). Evaluación de dietas artificiales y método de cría en laboratorio de *Rachiplusia nu* (Guenée) (Lep: Noctuidae). En: *II Congreso Argentino de Entomología. I Seminario Latinoamericano de vectores urbanos y animales sinantrópicos. I Reunión Latinoamericana sobre simúlidos*. La Cumbre, Córdoba. Argentina. p. 194.

- Diez, S.L., Gamundi, J.C., & Molinari, A.M. (1991c) Entomopatógenos aislados en larvas de lepidópteros plagas del cultivo de soja en la zona centro-sur de la Provincia de Santa Fe. *En II Congreso Argentino de Entomología. I Seminario Latinoamericano de vectores urbanos y animales sinantrópicos. I Reunión Latinoamericana sobre simúlidos*. La Cumbre, Córdoba. Argentina. p. 195.
- Diez, S.L., & Gamundi, J.C. (1995) Inhibidores de la síntesis de quitina: Efecto sobre la mortalidad y consumo foliar en *Anticarsia gemmatilis* y *Rachiplusia nu* en soja. INTA-EEA Oliveros *Informe Técnico*, **47**, 9 pp.
- Di Paola, M.M. (2015) Expansión de la frontera agropecuaria. Proyecto editorial de la Licenciatura en Economía y Administración Agrarias de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires. *Apuntes Agroeconómicos* (disponible en: http://www.agro.uba.ar/apuntes/no_4/expansion.htm#_ftn1).
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C.W. (2008). InfoStat, versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C.W. (2017). InfoStat, versión 2017, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Dix, M.E., Cunningham, R.A., & King, R.M. (1996) Evaluating spring cankerworm (Lepidoptera: Geometridae) preference for Siberian elm clones. *Environmental Entomology*, **25**, 56-62.
- Doddala, P.R.C., Minor, M.A., Wang, Q., Rogers, D.J., Koot, E.M., & Trewick, S.A. (2016) Role of olfaction in host plant selection and local adaptation of a polyphagous herbivore, *Eucolaspis Sharp*. *Journal of Applied Entomology*, **140(6)**, 444-452.
- Dodds, K.A., Clancy, K.M., Leyva, K.J., Greenberg, D., & Price, P.W. (1996) Effects of Douglas-fir foliage age class on western spruce budworm oviposition choice and larval performance. *The Great Basin Naturalist*, **56**, 135-141.
- Domínguez, N., & Orsini, G. (2014) Reflexiones sobre el impacto de la agricultura permanente en base a la monoproducción de soja en las economías regionales: el caso de Entre Ríos. *Revista de la Facultad de Ciencias Económicas- UBA*, 1-23.
- Doré, T., Makowski, D., Malézieux, E., Munier-Jolain, N., Tchamitchian, M., & Tittone, P. (2011) Facing up to the paradigm of ecological intensification in agronomy: revisiting methods, concepts and knowledge. *European Journal of Agronomy*, **34(4)**, 197-210.
- Dougherty, E.C. (1959) Introduction to axenic culture of invertebrate metazoa: a goal. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **77**, 27-54.
- Duale, A.H., & Nwanze, K.F. (1999) Incidence and distribution in sorghum of the spotted stem borer *Chilo partellus* and associated natural enemies in farmers' fields in Andhra Pradesh and Maharashtra states. *International Journal of Pest Management*, **45(1)**, 3-7.
- EASAC, European Academies' Science Advisory Council (2015) Ecosystem services, agriculture and neonicotinoides. German National Academy of Sciences Leopoldina. *EASAC Policy Report*, **26**, 61 pp.
- Echarte, L., Della Maggiora, A., Cerrudo, D., González, V.H., Abbate, P., Cerrudo, A., Sadras, V.O., & Calviño, P. (2011) Yield response to plant density of maize and sunflower intercropped with soybean. *Field Crop Research*, **121**, 423-429.
- Ekbom, B., & Popov, S.Y. (2004) Host plant affects pollen beetle (*Meligethes aeneus*) egg size. *Physiological Entomology*, **29(2)**, 118-122.

- EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Soybean & FAO (2002) International Technical Workshop on Biological Management of Soil Ecosystems for Sustainable Agriculture. Londrina, PR. Program, abstracts and related documents of the International Technical Workshop on Biological Management of Soil Ecosystems for Sustainable Agriculture. *Documentos / Embrapa Soja* **182**. 256 pp.
- EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2006) *Controle de plantas daninhas*. Sistemas de Produção 10. Tecnologias de Produção de Soja - Paraná 2007. Disponible en: <http://www.cnpso.embrapa.br/download/cultivares2006/brs133.pdf>
- Erelli, M.C., & Elkinton, J.S. (2000). Maternal effects on gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) population dynamics: a field experiment. *Environmental Entomology*, **29**(3), 476-488.
- Esperk, T., Tammaru, T., & Nylin, S. (2007). Intraspecific variability in number of larval instars in insects. *Journal of Economic Entomology*, **100**(3), 627-645.
- Fachinetti, R. (2012) *Dinámica poblacional de la oruga medidora Rachiplusia nu (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae)*. Tesina de Grado. Carrera de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba. 49 pp.
- Fahn, A. (2000) Structure and function of secretory cells. *Plant Trichomes*. (ed. Hallahan, D.L., & Gray, J.C.), p. 37. Academic Press: New York, USA.
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations (2018) *World Food and Agriculture Statistical Pocketbook*. Roma. Disponible en: <http://www.fao.org/3/CA1796EN/ca1796en.pdf>
- FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food and Agriculture data (2017) *Crops*. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Feeny, P.P. (1970) Seasonal changes in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. *Ecology*, **51**, 565-581.
- Fehr, W.R., & Caviness, C.E. (1977) Stages of soybean development. Iowa St. Univ. *Special Report*, **80**, 11 pp.
- Fichetti, P., Segota, V., Viglianco, A., Mazzuferi, V., & Ávalos, S. (2013) Efecto de dos dietas artificiales sobre diferentes aspectos de la biología de *Helicoverpa gelatopoeon* (Dyar) (Lepidoptera: Noctuidae). *Nexo Agropecuario*, **1**(2), 24-26.
- Finch, S., & Kienegger, M. (1997) A behavioural study to help clarify how undersowing with clover affects host-plant selection by pest insects of brassica crops. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **84**, 165-172.
- Finch, S., & Collier, R.H. (2000) Host-plant selection by insects-a theory based on "appropriate/inappropriate landings" by pest insects of cruciferous plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **96**, 91-102.
- Finch, S., & Collier, R.H. (2011) The influence of host and non-host companion plants on the behavior of pest insects in field crops. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **142**, 87-96.
- Flores, C.C., & Sarandón, S.J. (2002) ¿Racionalidad económica versus sustentabilidad ecológica? El ejemplo del costo oculto de la pérdida de fertilidad del suelo durante el proceso de Agriculturización en la Región Pampeana Argentina. *Revista de la Facultad de Agronomía*, **105**(1), 52-67.
- Fowler, C., & Mooney, P. (1990) *Shattering. Food, politics and the loss of genetic diversity*. The University of Arizona Press, Tucson, AZ.

- Formentini, A.C., Sosa-Gómez, D.R., Paula-Moraes, S.V.D., Barros, N.M.D., & Specht, A. (2015) Lepidoptera (Insecta) associated with soybean in Argentina, Brazil, Chile and Uruguay. *Ciência Rural, Santa Maria*, **45**(12), 2113-2120.
- Fox, L.R., & Eisenbach, J. (1992) Contrary choices: possible exploitation of enemy-free space by herbivorous insects in cultivated vs. wild crucifers. *Oecologia*, **89**, 574-579.
- Fox, C.W., Waddell K.J., & Mousseau, T.A. (1995) Parental host plant affects offspring life histories in a seed beetle. *Ecology*, **76**, 402-411.
- Fox, C.W. (2000). Maternal effect in insect-plant interactions: lessons from a desert seed beetle. *Recent Research Developments in Entomology*, **3**, 71-93.
- Franceschi, V.R., & Giaquinta, R.T. (1983) Glandular trichomes of soybean leaves: cytological differentiation from initiation through senescence. *Botanical Gazette*, **144**(2), 175-184.
- Francis, C.A. (1986) Introduction: Distribution and importance of multiple cropping. *Multiple cropping systems* (ed. Francis, C.A.), pp. 1-19. MacMillan Publishing Company. New York, NY, USA.
- Franco, J.G., Saliendra, N., Sanderson, M., Liebig, M., & Archer, D. (2016) Long-term agroecosystem research: the potential for sunflower to provide multiple ecosystem services in diverse cropping systems. In: *National Sunflower Association Research Forum*, Fargo (ND), USA.
- Freitas, A.V.L., & Oliveira, P.S. (1996) Ants as selective agents on herbivore biology: effects on the behaviour of a non-myrmecophilous butterfly. *Journal of Animal Ecology*, **65**, 205-210.
- Freitas, A.V.L., & Kaminski, L.A. (2014) Ovipositing off the host plant by two tropical nymphalid butterflies. *Journal of the Lepidopterists' Society*, **68**(2), 143-144.
- Gaba, S., Lescourret, F., Boudsocq, S., Enjalbert, J., Hinsinger, P., Journet, E.P., Navas, M.L., Wery, J., Louarn, G., *et al.* (2015) Multiple cropping systems as drivers for providing multiple ecosystem services: from concepts to design. *Agronomy for Sustainable Development*, **35**(2), 607-623.
- Galway, K.E., Duncan, R.P., Syrett, P., Emberson, R.M., & Sheppard, A.W. (2004) Insect performance and host-plant stress: a review from a biological control perspective. En: *Proceedings of the XI International Symposium on Biological Control of Weeds*. Canberra, Australia. Vol. **27**, 394-399.
- Gamundi, J.C., & Buhmann, M.E. (1983) Algunos aspectos biológicos y consumo foliar en soja de la "oruga medidora" *Rachiplusia nu* Guenée en condiciones de laboratorio. En: *V Jornadas Fitosanitarias Argentinas*. Rosario, Argentina. p. 108.
- Gamundi J.C., & Perotti, E. (2007). Manejo integrado de orugas defoliadoras y chinches. Umbrales de daño. *Para Mejorar la Producción en Sistemas Sustentables*. EEA Oliveros, 5-7.
- Gaston, K.J., Reavey, D., & Valladares, G. (1991) Changes in feeding habit as caterpillars grow. *Ecological Entomology*, **16**, 339-344.
- Genç, H. (2006) General principles of insect nutritional ecology. *Trakya University Journal of Science*, **7**, 53-57.
- Gianoli, E., Ramos, I., Alfaro-Tapia, A., Valdéz, Y., Echegaray, E.R., & Yábar, E. (2006) Benefits of a maize-bean-weeds mixed cropping system in Urubamba Valley, Peruvian Andes. *International Journal of Pest Management*, **52**, 283-289.

- Gilbert, N., & Raworth, D.A. (1996) Insects and temperature, a general theory. *Canadian Entomologist*, **128**, 1-13.
- Gilbert, N. (1988) Control of fecundity in *Pieris rapae*. V. Comparisons between populations. *Journal of Animal Ecology*, **57**, 395-410.
- Gilbert, E., Powell, J.A., Logan, J.A., & Bentz, B.J. (2004) Comparison of three models predicting developmental milestones given environmental and individual variation. *Bulletin of Mathematical Biology*, **66**(6), 1821-1850.
- Giorda, L.M. (1997) La soja en la Argentina. *El cultivo de la soja en Argentina*. (ed. Giorda, L.M., & Baigorri, H.E.J.), pp. 13-26. Ediciones INTA, Manfredi, Córdoba. Argentina.
- Giuggia, J.A., Boito, G.T., Giovanini, D., Crenna, A.C., & Gerardo, U.A. (2011) Eficiencia de control de "orugas defoliadoras" en soja (*Glycine max* L.), con insecticidas neurotóxicos y reguladores del crecimiento de los insectos. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, **43**(1), 143-153.
- Glazier, D.S. (1992) Effects of food, genotype, and maternal size and age on offspring investment in *Daphnia magna*. *Ecology*, **73**(3), 910-926.
- Goane, L., Valladares, G., & Willink, E. (2008) Preference and performance of *Phyllocnist citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) on three citrus host: laboratory and field assessment. *Environmental Entomology*, **37**(4), 1025-1034.
- Gómez Jiménez, M.I., Sarmiento, C.E., Díaz, M.F., Chautá, A., Peraza, A., Ramírez, A., & Poveda, K. (2014) Oviposition, larval preference, and larval performance in two polyphagous species: does the larva know best?. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **153**(1), 24-33.
- González, M., Miglioranza, K.S., Grondona, S.I., Barni, M.F.S., Martinez, D.E., & Peña, A. (2013) Organic pollutant levels in an agricultural watershed: the importance of analyzing multiple matrices for assessing streamwater pollution. *Environmental Science: Processes & Impacts*, **15**(4), 739-750.
- Gould, F. (1988) Stress specificity of maternal effects in *Heliothis virescens* Boddie (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Memoirs of the Entomological Society of Canada*, **146**, 191-197.
- Greco, N.M., Sarandón, S.J., & Pereyra, P.C. (1998) Parasitism of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) eggs by *Trichogramma exiguum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): Influence of *Zea mays* leaf pubescence. *Ecología Austral*, **8**, 31-35.
- Greco, N.M., Sánchez, N.E., & Pereyra, P.C. (2002) Principios de manejo de plagas en una agricultura sustentable. *Agroecología. El camino hacia una agricultura sustentable*. (ed. Sarandón, S.), pp. 251-271. Ediciones Científicas Americanas, La Plata, Argentina.
- Greenberg, S.M., Sappington, T.W., Legaspi, J.R.B.C., Liu, T.X., & Sé- Tamou, M. (2001). Feeding and life history of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) on different host plants. *Annals of the Entomological Society of America*, **94**(4), 566-575.
- Greenberg, S.M., Sappington, T.W., Sétamou, M., & Liu, T.X. (2002) Beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) host plant preferences for oviposition. *Environmental Entomology*, **31**(1), 142-148.
- Greene, G.L., Leppla, N.C., & Dickerson, W.A. (1976) Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. *Journal of Economic Entomology*, **69**: 487-488.

- Gregorutti, V.C., Caviglia, O.P., & Saluso, A. (2012) Defoliation affects soybean yield depending on time and level of light interception reduction. *Australian Journal of Crop Science*, **6**(7), 1166-1171.
- Grime, J.P., & Campbell, B.D. (1991) Growth rates, habitat productivity, and strategy as predictors of stress response. *Response of plants to multiple stresses* (ed. Mooney, H.A., Winner, W.E., & Pell, E.J.), pp. 143-157. Academic Press Inc., USA
- Griot, M. (1944) Oruga que vacía las cápsulas de lino. *Revista Argentina de Agronomía*, **11**, 44-57.
- Gripenberg, S., Mayhew, P.J., Parnell, M., & Roslin, T. (2010) A meta-analysis of preference-performance relationships in phytophagous insects. *Ecology letters*, **13**, 383-393.
- Gutbrodt, B., Mody, K., & Dorn, S. (2011) Drought changes plant chemistry and causes contrasting responses in lepidopteran herbivores. *Oikos*, **120**(11), 1732-1740.
- Gutbrodt, B., Dorn, S., & Mody, K. (2012) Drought stress affects constitutive but not induced herbivore defence resistance in apple plants. *Arthropod Plant Interactions*, **6**, 171-179.
- Gutiérrez Cabello, A.D., Pérez Barcia, V., Lifschitz, E., Rodríguez Salto, L., & Salama, A. (2011) Análisis del complejo agroindustrial soja-girasol. Universidad Nacional de San Martín. Escuela de Economía y Negocios. *Serie de documentos de economía regional*, **8**, 10-14.
- Guyton, K., Loomis, D., Grosse, Y., Ghissassi, F., Benbrahim-Tallaa, L., Guha, N., Scoccianti, C., Mattock, H., Straif, K. (2015) Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. *The Lancet Oncology*. IARC, Lyon, Francia. Disponible en [http://www.thelancet.com/pdfs/journals/lanonc/PIIS1470-2045\(15\)70134-8.pdf](http://www.thelancet.com/pdfs/journals/lanonc/PIIS1470-2045(15)70134-8.pdf)
- Hale, B.K., Herms, D.A., Hansen, R.C., Clausen, T.P., & Arnold, D. (2005). Effects of drought stress and nutrient availability on dry matter allocation, phenolic glycosides, and rapid induced resistance of poplar to two lymantriid defoliators. *Journal of Chemical Ecology*, **31**, 2601-2620.
- Hall, R. (1995) Challenges and prospects of integrated pest management. *Novel Approaches to Integrated Pest Management* (ed. Reuveni, R.), pp. 1-19. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida.
- Hambäck, P.A., & Beckerman, A.P. (2003) Herbivory and plant resource competition: a review of two interacting interactions. *Oikos*, **101**, 26-37.
- Hambäck, P.A., Inouye, B.D., Andersson, P., & Underwood, N. (2014) Effects of plant neighborhoods on plant-herbivore interactions: resource dilution and associational effects. *Ecology*, **95**(5), 1370-1383.
- Hamed, M., & Khattak, S.U. (1985) Red flour beetle: development and losses in various stored food stuffs. *Sarhad Journal of Agriculture*, **1**, 97-101.
- Handley, R., Ekbom, B., & Ågren, J. (2005) Variation in trichome density and resistance against a specialist insect herbivore in natural populations of *Arabidopsis thaliana*. *Ecological Entomology*, **30**, 284-292.
- Hanley, M.E., Lamont, B.B., Fairbanks, M.M., & Rafferty, C.M. (2007). Plant structural traits and their role in anti-herbivore defence. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, **8**, 157-178.

- Hagstrum, D.W., & Milliken, G.A. (1988) Quantitative analysis of temperature, moisture, and diet factors affecting insect development. *Annals of the Entomological Society of America*, **81**(4), 539-546.
- Harrison, J.F., Woods, H.A., & Roberts, S.P. (2012) Temperature. *Ecological and Environmental Physiology of Insects*, pp. 64-191. Ed. OUP Oxford.
- Hauggaard-Nielsen, H., & Jensen, E.S. (2005) Facilitative root interactions in intercrops. *Plant Soil*, **274**, 237-250.
- Hauggaard-Nielsen, H., Jørnsgaard, B., Kinane J., & Jensen, E.S. (2008) Grain legume-cereal intercropping: The practical application of diversity, competition and facilitation in arable and organic cropping systems. *Renewable Agriculture and Food Systems*, **23**, 3-12.
- Havukkala, I., & Virtanen, M. (1985) Behavioural sequence of host selection and oviposition in the turnip root fly *Delia floralis* (Fall.) (Anthomyiidae). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, **100**(1-5), 39-47.
- Hayter, A. (2012) Inferences on a population mean. *Probability and Statistics for Engineers and Scientists*. pp. 333-389. Brooks/Cole, Cengage Learning.
- Heinz, K.M., & Zalom, F.G. (1995) Variation in trichome-based resistance to *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) oviposition on tomato. *Journal of Economic Entomology*, **88**, 1495–1502.
- Heisswolf, A., Obermaier, E., & Poethke, H.J. (2005) Selection of large host plants for oviposition by a monophagous leaf beetle: nutritional quality or enemy-free space?. *Ecological Entomology*, **30**, 299-306.
- Hemati, S.A., Naseri, B., & Razmjou, J. (2013). Reproductive performance and growth indices of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on various host plants. *Journal of Crop Protection*, **2**(2), 193-208.
- Hermes, D.A., & Mattson, W.J. (1992) The dilemma of plants: to grow or defend. *The quarterly review of biology*, **67**(3), 283-335.
- Hirota, T., & Kato, Y. (2001) Influence of visual stimuli on host location in the butterfly, *Eurema hecabe*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **101**, 199-206.
- Hofmann-Campo, C.B., Harborne, J.B., & McCaferly, A.R. (2001) Pre-ingestive and post-ingestive effects of soya bean extracts and rutin on *Trichoplusia ni* growth. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **98**, 181-194.
- Hokkanen, H.M.T. (1991) Trap Cropping in Pest Management. *Annual Review of Entomology*, **36**, 119-138.
- Holmes, D.M., & Barrett, G.W. (1997) Japanese beetle (*Popillia japonica*) dispersal behavior in intercropped vs. monoculture soybean agroecosystems. *American Midland Naturalist*, **137**(2), 312-319.
- Honda, K. (1995) Chemical basis of differential oviposition by lepidopterous insects. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, **30**, 1-23.
- Honěk, A., Jarošík, V., Matinková, Z., & Novák, I. (2002) Food induced variation of thermal constants of development and growth of *Autographa gamma* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *European Journal of Entomology*, **99**(2), 241-252.
- Hooks, C.R.R., & Johnson, M.W. (2003) Impact of agricultural diversification on the insect community of cruciferous crops. *Crop Protection*, **22**, 223-238.

- Hopkins, R.J., Wright, F., Mckinlay, R.G., & Birch, A.N.E. (1996) Analysis of sequential behaviour patterns: the oviposition decision of the turnip root fly, *Delia floralis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **80**(1), 93-96.
- Hopkins, R.J., Wright, F., Birch, A.N.E., & Mckinlay, R.G. (1999) The decision to reject an oviposition site: sequential analysis of the post-alighting behaviour of *Delia floralis*. *Physiological Entomology*, **24**(1), 41-50.
- Horton, D.R., & Redak, R.A. (1993) Further comments on analysis of covariance in insect dietary studies. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **69**(3), 263-275.
- Hüht, U., Samietz, J., Höhn, H., & Dorn, S. (2006). Modelling the phenology of codling moth: Influence of habitat and thermoregulation. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **117**, 29-38.
- Hunter, M.D., & Price, P.W. (1992) Playing chutes and ladders- Heterogeneity and the relative roles of bottom-up and top-down forces in natural communities. *Ecology*, **73**, 724-732.
- Hunter, M.D. (2002) Maternal effects and the population dynamics of insects on plants. *Agricultural and Forest Entomology*, **4**, 1-9.
- Hydorn, S.B., & Whitcomb, W.H. (1972) Effects of parental age at oviposition on progeny of *Chrysopa rufilabris*. *Florida Entomologist*, **55**(2), 79-85.
- Iannone, N., & Leiva, P.D. (1994) *Manejo de plagas animales del girasol en la región pampeana argentina*. INTA EEA Pergamino, 93 pp.
- Igarzábal, D., Fichetti, P., Navarro, F., Mas, G., & Morre, J. (2011) *Manejo de orugas defoliadoras*. Manual Técnico DuPont® Coragen®. 95 pp.
- Ijoyah, M.O. (2012) Review of intercropping research: Studies on cereal-vegetable based cropping system. *Scientific Journal of Crop Science*, **1**(3), 55-62.
- Indiragandhi, P., Anandham, R., Madhaiyan, M., & Sa, T.M. (2008) Characterization of plant growth-promoting traits of bacteria isolated from larval guts of diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Current microbiology*, **56**(4), 327-333.
- IPCC. Intergovernmental Panel on Climate Change (2013) Climate Change 2013: The physical science basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the intergovernmental Panel on Climate Change. (ed. Stocker, T.F. *et al.*) *Cambridge University Press*, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. 1535 pp.
- Isenhour, D.J., Wiseman, B.R., & Widstrom, N.W. (1985) Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) feeding responses on corn foliage and foliage/artificial diet medium mixtures at deferent temperatures. *Journal of Economic Entomology*, **78**, 328-332.
- Jackai, L.E.N., & Adalla, C.B. (1997) Pest management practices in cowpea: A review. *Advances in Cowpea Research*. (ed. Singh, B.B., Mohan Raj, D.R., Dashiell, K.E., & Jackai, L.E.N.), pp. 240-258. International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan, Nigeria & Japan International Research Center for Agircultural Sciences Tsukuba, Ibaraki, Japan.
- Jactel, H., & Brockerhoff, E.G. (2007) Tree diversity reduces herbivory by forest insects. *Ecology Letters*, **10**(9), 835-848.
- Jaenike, J. (1978) On optimal oviposition behaviour in phytophagous insects. *Theoretical Population Biology*, **14**(3), 350-356.

- Jallow, M.F., & Zalucki, M.P. (1998) Effects of egg load on the host-selection behaviour of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Australian Journal of Zoology*, **46**(3), 291-299.
- Jallow, M.F.A., & Zalucki, M.P. (2003) Relationship between oviposition preference and offspring performance in Australian *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Australian Journal of Entomology*, **42**(4), 343 - 348.
- Jamieson, M.A., Trowbridge, A.M., Raffa, K.F., & Lindroth, R.L. (2012) Consequences of climate warming and altered precipitation patterns for plant-insect and multitrophic interactions. *Plant Physiology*, **160**(4), 1719-1727.
- Janković-Tomanić, M., & Lazarević, J. (2012). Effects of temperature and dietary nitrogen on genetic variation and covariation in gypsy moth larval performance traits. *Archives of Biological Sciences*, **64**(3), 1109-1116.
- Jankowska, B. (2006) The occurrence on some Lepidoptera pests on different cabbage vegetables. *Journal of Plant Protection Research*, **46**(2), 181-190.
- Jann, P., & Ward, P.I. (1999). Maternal effects and their consequences for offspring fitness in the yellow dung fly. *Functional Ecology*, **13**, 51-58.
- Janz, N. (2002) Evolutionary ecology of oviposition strategies. *Chemoecology of insect eggs and egg deposition* (ed. Holker, M., & Meiners, T.), pp. 349-376. Blackwell, Berlin.
- Jarošík, V., Honěk, A., & Dixon, A. F. (2002) Developmental rate isomorphy in insects and mites. *The American Naturalist*, **160**(4), 497-510.
- Jarvis, C.H., Baker, R.H.A., & Morgan, D. (2003). The impact of interpolated daily temperature data on landscape-wide predictions of invertebrate pest phenology. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **94**, 169-181.
- Jaworski, T., & Hilszczański, J. (2013) The effect of temperature and humidity changes on insects development their impact on forest ecosystems in the expected climate change. *Forest Research Papers*, **74**(4), 345-355.
- Jermý T., Szentesi, A., & Horváth, J. (1988) Host plant finding in phytophagous insects: the case of the colorado potato beetle. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **49**, 83-98.
- Joachim-Bravo, I.S., & Zucoloto, F.S. (1997) Oviposition preference and larval performance in *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, **14**(4), 795-802.
- Johnson, J.A., Wofford, P.L., & Whitehand, L.C. (1992) Effect of diet and temperature on development rates, survival, and reproduction of the Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Economic Entomology*, **85**(2), 561-566.
- Jost, D.J., & Pitri, H.N. (2002) Soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae) oviposition on cotton and soybean of different growth stages: influence of olfactory stimuli. *Journal of Economic Entomology*, **95**(2), 286-293.
- Jørgensen, H.B., & Toft, S. (1997) Role of granivory and insectivory in the life cycle of the carabid beetle *Amara similata*. *Ecological Entomology*, **22**, 7-15.
- Ju, R.T., Wang, F., & Li, B. (2011) Effects of temperature on the development and population growth of the sycamore lace bug, *Corythucha ciliata*. *Journal of Insect Science*, **11**(16), 1-12.
- Karimi-Malati, A., Fathipour, Y., & Talebi, A. A. (2014) Development response of *Spodoptera exigua* to eight constant temperatures: linear and nonlinear modeling. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, **17**(3), 349-354.

- Kersting, U., Satar, S., & Uygun, N. (1999) Effect of temperature on development rate and fecundity of apterous *Aphis gossypii* Glover (Hom., Aphididae) reared on *Gossypium hirsutum* L. *Journal of Applied Entomology*, **123**(1), 23-27.
- Khan, Z.R., Ward, J.T., & Norris, D.M. (1986) Role of trichomes in soybean resistance to cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **42**, 109-117.
- Kidd, K.A., & Orr, D.B. (2001) Comparative feeding and development of *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) on kudzu and soybean foliage. *Annals of the Entomological Society of America*, **94**(2), 219-225.
- Kitching, I.J. (1987) Spectacles and silver Y'S: a synthesis of the systematics, cladistics and biology of the Plusiinae (Lepidoptera: Noctuidae). *Bulletin of the British Museum (Natural History). Entomology*, **49**, 153-234.
- Knight, H., & Knight, M.R. (2001) Abiotic stress signaling pathways: specificity and cross-talk. *Trends in Plant Science*, **6**(6), 262-267.
- Kogan, M., & Ortman, E.F. (1978) Antixenosis - A new term proposed to define Painter's "nonpreference" modality of resistance. *Bulletin of the Entomological Society of America*, **24**(2), 175-176.
- Kogan, M. (1986) *Ecological Theory and Integrated Pest Management Practice*. John Wiley and Sons, New York.
- Kogan, M. (1998) Integrated pest management: Historical Perspectives and Contemporary Developments. *Annual Review of Entomology*, **43**, 243-70.
- Kollberg, I., Bylund, H., Schmidt, A., Gershenzon, J., & Bjoerkman, C. (2013) Multiple effects of temperature, photoperiod and food quality on the performance of a pine sawfly. *Ecological Entomology*, **38**(2), 201-208.
- Kostal, V., & Finch, S. (1994) Influence of background on host-plant selection and subsequent oviposition by the cabbage root fly (*Delia radicum*). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **70**, 153-163.
- Koul, O., & Cuperus, G.W. (2007) Ecologically Based Integrated Pest Management: Present concept and new solutions. *Ecologically Based Integrated Pest Management*. (ed. Koul, O., & Cuperus, G.W.), 1-17. CAB International.
- Krebs, J.R., & Davies, N.B. (1997) *Behavioural ecology: an evolutionary approach*. Blackwell Science Ltd., Oxford, U.K.
- Kyneb, A., & Toft, S. (2006) Effects of maternal diet quality on offspring performance in the rove beetle *Tachyporus hynorum*. *Ecological Entomology*, **31**, 322-330.
- Ladner, D.T., & Altizer, S. (2005) Oviposition preference and larval performance of North American monarch butterflies on four *Asclepias* species. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **116**(1), 9-20.
- Lajmanovich, R.C., Peltzer, P.M., Attademo, A.M., Cabagna-Zenklusen, M.C., & Junges, C.M. (2012) Los agroquímicos y su impacto en los anfibios: un dilema de difícil solución. *Química Viva*, **11**(3), 184-198.
- Lamb, R.J. (1992) Developmental rate of *Acyrtosiphon pisum* (Homoptera: Aphididae) at low temperatures: implications for estimating rate parameters for insects. *Environmental Entomology*, **21**, 10-19.

- Lambert, L., & Kilen, T.C. (1984) Multiple insect resistance in several soybean genotypes. *Crop Science*, **24**(5), 887-890.
- Lambert, L., Beach, R.M., Kilen, T.C., & Todd, J.W. (1992) Soybean pubescence and its influence on larval development and oviposition preference of lepidopterous insects. *Crop Science*, **32**, 463-466.
- Landolt, P.J. (1989) Attraction of the cabbage looper to host plants and host plant odor in the laboratory. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **53**(2), 117-123.
- Larsson, S. (1989). Stressful times for the plant stress: insect performance hypothesis. *Oikos*, **56**(2), 277-283.
- Lavandero, B., Wratten, S., Shishehbor, P., & Worner, S. (2005) Enhancing the effectiveness of the parasitoid *Diadegma semiclausum* (Helen). Movement after use of nectar in the field. *Biological Control*, **34**, 152-158.
- Lazaro, H.O., Glencross, S.D., Nasca, A.J., Ricci, J.G., Zamora, J.A., Sosa Gomez, D.R., Lemme, M.C., Fernández De Araóz, D.S., & Morán Lemir, A.H. (1990) Fluctuación de las poblaciones de las principales orugas desfoliadoras y chinches fitófagas en cultivos de soja de la provincia de Tucumán, R. Argentina. *Revista de Investigaciones CIRPON*, **VIII (1-4)**, 7-22.
- Lee, K.P., Behmer, S.T., & Simpson, S.J. (2006) Nutrient regulation in relation to diet breadth: a comparison of *Heliothis* sister species and a hybrid. *The Journal of Experimental Biology*, **209**, 2076-2084.
- Lee, K.P. (2007) The interactive effects of protein quality and macronutrient imbalance on nutrient balancing in an insect herbivore. *Journal of Experimental Biology*, **210**(18), 3236-3244.
- Lema, D. (2017) Evolución y perspectiva de la producción y de la productividad agropecuaria. *En: Los desafíos de la agricultura argentina: satisfacer las futuras demandas y reducir el impacto ambiental.* (ed. Andrade, F.) Ciudad Autónoma de Buenos Aires: *Ediciones INTA*. Disponible en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/lib_desafiosagricultura_2017_online_b.pdf
- Leonard, D.E. (1970) Intrinsic factors causing qualitative changes in populations of *Porthetria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae). *The Canadian Entomologist*, **102**(2), 239-249.
- Lersten, N.R., & Carlson, J.B. (2004) Vegetative morphology. *Soybean: improvement, production and uses.* (co-ed. Boerma, H.B., & Specht, J.E.), pp. 20-25. Series Agronomy. Madison, Wisconsin, USA.
- Letourneau, D.K. (1987) The enemies hypothesis: tritrophic interactions and vegetational diversity in tropical agroecosystems. *Ecology*, **68**(6), 1616-1622.
- Letourneau, D.K. (1995) Associational susceptibility: effects of cropping pattern and fertilizer on Malawian bean fly levels. *Ecological Applications*, **5**(3), 823-829.
- Levesque, K.R., Fortin, M., & Mauffette, Y. (2002) Temperature and food quality effects on growth, consumption and post-ingestive utilization efficiencies of the forest tent caterpillar *Malacosoma disstria* (Lepidoptera: Lasiocampidae). *Bulletin of Entomological Research*, **92**(02), 127-136.
- Li, Z.H., Lammes, F., Van Lenteren, J.C., Huisman, P.W.T., Van Vianen, A., & De Ponti, O.M.B. (1987) The parasite-host relationship between *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera, Aphelinidae) and *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera, Aleyrodidae) XXV. Influence of leaf structure on the searching activity of *Encarsia formosa*. *Journal of Applied Entomology*, **104**, 297-304.

- Li, L.T., Wang, Y.Q., MA, J.F., Liu, L., Hao, Y.T., Dong, C., Gan, Y.J., Dong, Z.P., & Wang, Q.Y. (2013) The effects of temperature on the development of the moth *Athetis lepigone*, and a prediction of field occurrence. *Journal of Insect Science*, **13**, 1-13.
- Litsinger, J.A., & Moody, K. (1976) Integrated Pest Management in multiple cropping systems. *American Society of Agronomy*, **27**, 293-316.
- Liu, S.S., & Meng, X.D. (1999) Modelling developmental time of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) at constant and natural temperatures. *Bulletin of Entomological Research*, **89**, 53-63.
- López, R., Díaz, M.G., Kuttel, W., & Caviglia, O. (2008) Evaluación de diferentes proporciones de maíz-soja en intercultivo. Actualización Técnica Cosecha Gruesa. INTA EEA Paraná. *Serie Extensión*, **49**, 40-45.
- López Pereira, M., Trapani, N., Casal, J.J., & Hall, A.J. (2008) Early response to high crop population density in sunflower: controls and effects of the crop self-organization process. *En: 17th International Sunflower Conference*, Córdoba, Spain. pp. 417-422.
- López Pereira, M., Sadras, V.O., Batista, W., Casal, J.J., & Hall, A.J. (2017) Light-mediated self-organization of sunflower stands increases oil yield in the field. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **114**(30), 7975-7980.
- López Torres, M. (1995) Resistencia a los insectos. *Resistencia de las plantas*. pp. 60-76. Editorial Trillas- México.
- Lower, S.S., Kirshenbaum, S., & Orians, C.M. (2003) Preference and performance of a willow-feeding leaf beetle: soil nutrient and flooding effects on host quality. *Oecologia*, **136**(3), 402-411.
- Luginbill, P. (1928) The fall armyworm. *United States Department of Agriculture, Tech. Bulletin*, **34**, 91 pp.
- Luna, M.G., & Greco, N.M. (1998) Disposición espacial de las larvas de *Rachiplusia nu* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae) en el cultivo de soja. *Ecología Austral*, **8**, 41-47.
- Luna, M.G., & Sánchez, N.E. (1999) Parasitoid assemblages of soybean defoliator Lepidoptera in north-western Buenos Aires province, Argentina. *Agricultural and Forest Entomology*, **1**, 255-260.
- Luz, P.M.C., Azevedo Filho, W.S., & Specht, A. (2014) Caracterização morfológica dos estágios imaturos de *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae: Plusiinae) e lista de plantas hospedeiras. *Caderno de Pesquisa, Série Biologia*, **26**(3), 65-76.
- Machado, S. (2009) Does intercropping have a role in modern agriculture?. *Journal of Soil and Water Conservation*, **64**(2), 55-57.
- Marchioro, C.A., & Foerster, L.A. (2011) Development and survival of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) as a function of temperature: effect on the number of generations in tropical and subtropical regions. *Neotropical Entomology*, **40**(5), 533-541.
- Marchioro, C.A., & Foerster, L.A. (2014) Preference-performance linkage in the diamondback moth, *Plutella xylostella*, and implications for its management. *Journal of Insect Science*, **14**(85), 1-14.
- Malézieux, E., Crozat, Y., Dupraz, C., Laurans, M., Makowski, D., Ozier-Lafontaine, H., Rapidel, B., De Tourdonnet, S., & Valantin-Morison, M. (2009) Mixing plant species in cropping

systems: concepts, tools and models. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, **29**, 43-62.

- Manuel-Navarrete, D., Gallopín, G., Blanco, M., Díaz-Zorita, M., Ferraro, D., Herzer, H., Latta, P., Morello, J., Murmis, M.R. et al., (2005) Análisis sistémico de la agriculturización en la pampa húmeda argentina y sus consecuencias en regiones extra-pampeanas: sostenibilidad, brechas de conocimiento e integración de políticas. *Medio ambiente y desarrollo*. Naciones Unidas. CEPAL, Serie 118, 65 pp.
- Margaix, C., & Garrido, A. (2000) Efecto de temperaturas constantes en el desarrollo de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). *Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas*, **26**, 277-283.
- Margheritis, A.E., & Rizzo, H.F.E. (1965) *Lepidópteros de interés Agrícola. Orugas, Isocas y otras larvas que dañan los cultivos*. Editorial Sudamericana. 186 pp.
- Mayhew, P.J. (1998) Testing the preference-performance hypothesis in phytophagous insects: lessons from chrysanthemum leafminer (Diptera: Agromyzidae). *Environmental Entomology*, **27**, 45-52.
- Mayhew, P.J. (2001) Herbivore host choice and optimal bad motherhood. *Trends in Ecology & Evolution*, **16**(4), 165-167.
- McAdam, A.G., Boutin, S., Reale, D., & Berteaus, D. (2002) Maternal effects and the potential for evolution in natural populations of animals. *Evolution*, **56**, 846-851.
- McAuslane, H.J., Johnson, F.A., Colvin, D.L., & Sojack, B. (1995) Influence of foliar pubescence on abundance and parasitism of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on soybean and peanut. *Environmental Entomology*, **24**(5), 1135-1143.
- McCarthy, C.B., Cabrera, N.A., & Virla, E.G. (2015) Metatranscriptomic analysis of larval guts from field-collected and laboratory-reared *Spodoptera frugiperda* from the South American subtropical region. *Genome Announcements*, **3**(4), e00777-15. doi:10.1128/genomeA.00777-15.
- Mehrkhou, F. (2013) Effect of soybean varieties on nutritional indices of beet armyworm *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *African Journal of Agricultural Research*, **8**(16), 1528-1533.
- Metcalf, R.L. (1980) Changing role of insecticides in crop protection. *Annual Review of Entomology*, **25**, 215-226.
- Metspalu, L., Hiiesaar, K., Jõgar, K., Švilponis, E., Ploomi, A., Kivimägi, I., Luik, A., & Mens'hikova, N. (2009). Oviposition preference of *Pieris brassicae* (L) on different *Brassica oleracea* var. *capitata* L. cultivars. *Agronomy Research* **7** (Special Issue I), 406-411.
- Millán, C., Chacón, P., & Corredor, G. (2010) Development, longevity, and oviposition of *Heliconius charithonia* (Lepidoptera: Nymphalidae) on two species of *Passiflora*. *Revista Colombiana de Entomología*, **36**(1), 158-164.
- Miller, J.R., & Cowles, R.S. (1990) Stimulo-deterrent diversion: a concept and its possible application to onion maggot control. *Journal of Chemical Ecology*, **16**, 3197-3212.
- Miller, F., & Ware, G. (2001) Resistance of temperate chinese elms (*Ulmus spp.*) to feeding by the adult leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, **94**, 162-166.
- Miller, W.E. (2011) Temperature-dependent development in capital-breeding Lepidoptera. *Journal of the Lepidopterists' Society*, **65**(4), 227-248.

- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, MAGP, AR- IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, CR) (2012) Estudio comparativo entre el cultivo de soja genéticamente modificado y el convencional en Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay. (Coords. Rocha, P., & Villalobos, V.M.). San José, CR, IICA. 90 pp.
- Minkenberg, O.P., Tatar, M., & Rosenheim, J.A. (1992) Egg load as a major source of variability in insect foraging and oviposition behavior. *Oikos*, **65**(1), 134-142.
- Miranda, I. (2014) Modelación matemática de la dinámica de poblaciones: desarrollo histórico y uso práctico en Cuba. *Revista de Protección Vegetal*, **29**(3), 157-167.
- Mithöfer, A., Wanner, G., & Boland, W. (2005) Effects of feeding *Spodoptera littoralis* on lima bean leaves. II. Continuous mechanical wounding resembling insect feeding is sufficient to elicit herbivory-related volatile emission. *Plant Physiology*, **137**, 1160-1168.
- Mody, K., Unsicker, S.B., & Linsenmair, K.E. (2007) Fitness related diet-mixing by intraspecific host-plant switching of specialist insect herbivores. *Ecology*, **88**, 1012-1020.
- Mody, K., Eichenberger, D. & Dorn, S. (2009) Stress magnitude matters: different intensities of pulsed water stress produce non-monotonic resistance responses of host plants to insect herbivores. *Ecological Entomology*, **34**, 133-143.
- Moghadam, S.G., Hosseini, M., & Awal, M.M. (2013) Does leaf pubescence of wheat affect host selection and life table parameters of *Sipha maydis* (Hemiptera: Aphididae)? *Journal of Crop Protection*, **2**(1), 81-92.
- Mojeni, T.D. (2008) Effect of different host plants on the development and reproduction of *Helicoverpa armigera* (Hub.) (Lepidoptera: Noctuidae) in Golestan province, Northern Iran. *Journal of Applied Biosciences*, **5**, 123-126.
- Molinari, A.M., Gamundi, J.C., Diez, S.L., & Monetti, N.C. (1987) Incidencia de factores naturales de mortalidad, parasitoides y entomopatógenos, en larvas de *Rachiplusia nu* (Gueneé). Lepidoptera: Noctuidae. En: *I Congreso Argentino de Entomología*. San Miguel de Tucumán. Argentina, p. 80.
- Molinari, A. M. (1990) Conceptos y descripción de especies entomófagas asociadas a insectos plagas del cultivo de soja. INTA – EEA Oliveros. 5^{ta} Ed. *Publicación Miscelánea*, **19**, 13 pp.
- Molinari, A.M., Ávalos, S., Gamundi, J.C., & Diez, S.L. (1991) Tachinidae (Diptera) parasitoides de lepidoptera defoliadores presentes en cultivos de soja en la provincia de Santa Fe. En: *Libro de Resúmenes. II Congreso Argentino de Entomología. I Seminario Latinoamericano de vectores urbanos y animales sinantrópicos. I Reunión Latinoamericana sobre simúlidos*. La cumbre, Córdoba. Argentina. p. 81.
- Molinari, A.M. (2005) *Control Biológico. Especies entomófagas en cultivos agrícolas*. 1^{ra} ed. INTA EEA Oliveros 80 pp.
- Molinari, A.M. (2007) Dieta artificial para criar larvas de lepidópteros en condiciones de laboratorio. *Protección Vegetal: Plagas*. Disponible en: <http://www.inta.gov.ar/oliveros>
- Moon, D.C., & Stiling, P. (2006) Trade-off in oviposition strategy: choosing poor quality host plants reduces mortality from natural enemies for a salt marsh planthopper. *Ecological Entomology*, **31**(3), 236-241.
- Mopper, S. (1996) Adaptive genetic structure in phytophagous insect populations. *Trends in Ecology and Evolution*, **11**, 235-238.

- Moran, P.J., & Showler, A.T. (2005) Plant responses to water deficit and shade stresses in pigweed and their influence on feeding and oviposition by the beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomology*, **34**(4), 929-937.
- Mostafa, A.M., Lowery, D.T., Jensen, L.B.M., & Deglow, E.K. (2011) Host plant suitability and feeding preferences of the grapevine pest *Abagrotis orbis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomology*, **40**(6), 1458-1464.
- Mousavi, S.R., & Eskandari, H. (2011) A general overview on intercropping and its advantages in sustainable agriculture. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, **1**(11), 482-486.
- Mousseau, T.A., & Dingle, H. (1991) Maternal effects in insect life histories. *Annual Review of Entomology*, **36**, 511-534.
- Mousseau, T.A., & Fox, C.W. (1998). The adaptive significance of maternal effects. *Trends in Ecology & Evolution*, **13**(10), 403-407.
- Mphosi, M.S., & Foster, S.P. (2010) Female preference and larval performance of sunflower moth, *Homoeosoma electellum*, on sunflower pre-breeding lines. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **134**, 182-190.
- Muriel, S.B., & Vélez, L.D. (2004) Evaluando la diversidad de plantas en los agroecosistemas como estrategia para el control de plagas. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica)*, **71**, 13-20.
- Murúa, G., Defago, V., & Virla, E. (2003) Evaluación de cuatro dietas artificiales para la cría de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) destinada a mantener poblaciones experimentales de himenópteros parasitoides. *Boletín de Sanidad Vegetal- Plagas*, **29**, 43-51.
- Murúa, M.G., Juárez, M.L., Prieto, S., Gastaminza, G., & Willink, E. (2009) Distribución temporal y espacial de poblaciones larvarias de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lep.: Noctuidae) en diferentes hospederos en provincias del norte de la Argentina. *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán*, **86**(1), 25-36.
- Myers, J.H. (1985) Effect of physiological condition of the host plant on the ovipositional choice of the cabbage white butterfly, *Pieris rapae*. *The Journal of Animal Ecology*, **54**, 193-204.
- Myers, J.H., Boettner, G., & Elkinton, J. (1998) Maternal effects in gypsy moth: only sex ratio varies with population density. *Ecology*, **79**(1), 305-314.
- Nabirye, J., Nampala, P., Ogenga-Latigo, M.W., Kyamanywa, S., Wilson, H., Odeke, V., Iceduna, C., & Adipala, E. (2003) Farmer-participatory evaluation of cowpea integrated pest management (IPM) technologies in Eastern Uganda. *Crop Protection*, **22**(1), 31-38.
- Naseri, B., Fathipour, Y., Moharrampour, S., & Hosseiniaveh, V. (2009) Comparative life history and fecundity of *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) on different soybean varieties. *Entomological Science*, **12**(2), 147-154.
- Naseri, B., Fathipour, Y., Moharrampour, S., & Hosseiniaveh, V. (2011) Comparative reproductive performance of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) reared on thirteen soybean varieties. *Journal of Agricultural Science and Technology*, **13**, 17-26.
- Nation, J.L. (2001) Insect physiology and biochemistry. Boca Raton, Fla., CRC Press.
- Nautiyal, A., Gaur, N., & Sharma, P. (2015) Morphological parameters of soybean plant resistance to lepidopterous defoliators. *Journal of Hill Agriculture*, **6**(1), 89-92.

- Navarro, F.R., Saini, E.D., & Leiva, P.D. (2009) Clave pictórica de polillas de interés agrícola, agrupadas por relación de semejanza. Primera Edición. INTA EEA Pergamino e IMyZA-CNIA Castelar/ Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo. Universidad Nacional de Tucumán. Buenos Aires, Argentina 100 pp.
- Nasca, A.J., & Sáenz, J.A. (1995) Ubicación de posturas de lepidópteros en la planta de soja *Glycine max* (Merril). En: *III Congreso Argentino de Entomología*. Mendoza-Argentina. p. 136.
- Ndemah, R., Schulthess, F., Korie, S., Borgemeister, C., Poehling, H.M., & Cardwell, K. (2003) Factors affecting infestations of the stalk borer *Busseola fusca* (Lepidoptera: Noctuidae) on maize in the forest zone of Cameroon with special reference to scelionid egg parasitoids. *Environmental Entomology*, **32**(1), 51-60.
- NIDERA Semillas (2005) Catálogo de semillas de girasol. Disponible en: <http://www.utilagro.bbt.net.ar/images/Nidera%20A7708%20A8000.htm>
- Nikoloff, N. (2013) Genotoxicidad de herbicidas de importancia agroeconómica en Argentina. Trabajo para optar por el título de Doctor en Ciencias Naturales. Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. 178 pp.
- Niu, Y.Q., Li, X.W., Li, P., & Liu T.X. (2013) Effects of different cruciferous crops on the fitness of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Crop Protection*, **54**, 100-105.
- Nylin, S., & Janz, N. (1993) Oviposition preference and larval performance in *Polygonia c-album* (Lepidoptera: Nymphalidae): the choice between bad and worse. *Ecological Entomology*, **18**, 394-398.
- Nylin, S., & Janz, N. (1996) Host plant preferences in the comma butterfly (*Polygonia c-album*): Do parents and offspring agree?. *Ecoscience*, **3**(3), 285-289.
- Nylin, S., Janz, N., & Wedell, N. (1996) Oviposition plant preference and offspring performance in the comma butterfly: correlations and conflicts. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **80**, 141-144.
- Nomikou, M., Janssen, A., & Sabelis, M.W. (2003) Herbivore host plant selection: whitefly learns to avoid host plants that harbour predators of her offspring. *Oecologia*, **136**(3), 484-488.
- Norris, D. M., & Kogan, M. (1980) Biochemical and morphological bases of resistance. (ed. Maxwell, E.G., & Jennings, R.R.), pp. 23-61. *Breeding Plants Resistant to Insects*. John Wiley & Sons, New York.
- Nottingham, S.F., & Coaker, T.H. (1985) The olfactory response of cabbage root fly *Delia radicum* to the host plant volatile allylisothiocyanate. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **39**, 307-316.
- O'Brien, D.M., Fogel, M.L., & Boggs, C.L. (2002) Renewable and nonrenewable resources: amino acid turnover and allocation to reproduction in Lepidoptera. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **99**, 4413-4418.
- Ofori, F., & Stern, W.R. (1987) Cereal-legume intercropping systems. *Advances in Agronomy*, **41**, 41-90.
- Olivares, T.S., Torres, S.A., & Zúñiga, L.A. (2005) Morfología de huevos de siete especies de noctuidos de Chile (Lepidoptera: Noctuidae) y clave actualizada para su identificación. *Revista de Biología Tropical*, **53**(1-2), 153-163.
- Olivera, J. (2001) *Manejo Agroecológico del Predio*. Guía de Planificación. Coordinadora Ecuatoriana de Agroecología, Quito. Ecuador.

- Olowe, V.I.O., & Adebimpe, O.A. (2009) Intercropping sunflower with soybeans enhances total crop productivity. *Biological Agriculture & Horticulture*, **26**(4), 365-377.
- Oriani, M.A.D.G., & Vendramim, J.D. (2010) Influence of trichomes on attractiveness and ovipositional preference of *Bemisia tabaci* (Genn.) B Biotype (Hemiptera: Aleyrodidae) on tomato Genotypes. *Neotropical Entomology*, **39**, 1002-1007.
- Oso, A.A., & Falade, M.J. (2010) Effect of variety and spatial arrangement on pest incidence, damage and subsequent yield of cowpea in a cowpea/maize intercrop. *World Journal of Agricultural Science*, **6**(3), 274-276.
- Padmavathi, C., Katti, G., Sailaja, V., Padmakumari, A.P., Jhansilakshmi, V., Prabhakar, M., & Prasad, Y.G. (2013) Temperature thresholds and thermal requirements for the development of the rice leaf folder, *Cnaphalocrocis medinalis*. *Journal of Insect Science*, **13**(1), 96.
- Páez, S.M. (2016) Soja en Argentina a principios del siglo XXI: el sistema agropecuario y la competencia por el uso del suelo productivo. *Cuadernos de Economía Crítica*, **3**(5), 135-169.
- Painter, R.H. (1941) The economic value and biological significance of insect resistance in plants. *Journal of Economic Entomology*, **34**, 358-367.
- Palaniswamy, P., Gillott, C., & Slater, G.P. (1986) Attraction of diamondback moths, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), by volatile compounds of canola, white mustard, and faba bean. *The Canadian Entomologist*, **118**(12), 1279-1285.
- Paleologos, M.F., & Flores, C.C. (2014) Principios para el manejo ecológico de plagas. *Agroecología: bases teóricas para el diseño y manejo de Agroecosistemas sustentables*. (ed. Sarandón, S.J., & Flores, C.C.), pp. 260-285. Universidad Nacional de la Plata, La Plata, Argentina.
- Paniagua Voirol, L.R., Frago, E., Kaltenpoth, M., Hilker, M., & Fatouros, N. E. (2018) Bacterial symbionts in lepidoptera: Their diversity, transmission, and impact on the host. *Frontiers in microbiology*, **9**(556), 1-14.
- Panizzi, A.R., Vivan, L.M., Corrêa-Ferreira, B.S., & Foerster, L.A. (1996). Performance of southern green stink bug (Heteroptera: Pentatomidae) nymphs and adults on a novel food plant (Japanese privet) and other hosts. *Annals of the Entomological Society of America*, **89**, 822-827.
- Panizzi, A.R., Oliveira, L.J., & Silva, J.J. (2004) Survivorship, larval development and pupal weight of *Anticarsia gemmatilis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) feeding on potential leguminous host plants. *Neotropical Entomology*, **33**(5), 563-567.
- Panizzi, A.R., Silva, F.A.C., Depieri, R., Siqueira, F., Silva, J.J., & Corrêa- Ferreira, B. (2008) Workshop criação de percevejos em laboratório. EMBRAPA Soja. 5 al 9 de mayo. Brasil.
- Pansera de Araújo, M.C.G., Da Cruz, I.B.M., Cavalheiro, M., & Oliveira, A.K. (1999) Placement of noctuid eggs (Lepidoptera) on Soybean Plants. *Annals of the Entomological Society of America*, **92**(5), 702-706.
- Papaj, D.R., & Rausher, M.D. (1987) Components of conspecific host discrimination behavior in the butterfly *Battus philenor*. *Ecology*, **68**, 245-253.
- Parrott, W., Walker, D., Zhu, S., Boerma, H.R., & All, J. (2008) Genomics of insect-soybean interactions. *Genetics and Genomics of Soybean* (ed. Stacey, G.), pp. 269-291. Springer, New York.

- Pastrana, J. (2004) *Los lepidópteros argentinos. Sus plantas hospedadoras y otros sustratos alimenticios*. (coord.. Braun, K., Logarzo, G., Cordo, H.A., & Di Iorio, O.R.) Sociedad Entomológica Argentina ediciones, Buenos Aires. Argentina.
- Pastrana, J., Di Iorio, O.R., Navarro, F., Chalup, A., & Villagrán, M.E. (2004) *Lepidoptera. Catálogo de insectos fitófagos de la Argentina y sus plantas asociadas*. (ed. Cordo, H.A., Logarzo, G., Braun, K., & Di Iorio, O.R.), pp. 463-465. Sociedad Entomológica Argentina ediciones, Buenos Aires. Argentina.
- Päts, P., Ekbohm, B., & Skovgård, H. (1997) Influence of intercropping on the abundance, distribution and parasitism of *Chilo* spp. (Lepidoptera: Pyralidae) eggs. *Bulletin of Entomological Research*, **87**, 507-513.
- Payton, M.E., Richter, S.J., Giles, K.L., & Royer, T.A. (2006). Transformations of count data for tests of interaction in factorial and split-plot Experiments. *Journal of Economic Entomology*, **99**(3), 1002-1006.
- Pedigo, L. (1996). *Entomology and pest management*. Ed. Prentice-Hall Inc. New Jersey
- Pedigo, L.P., & Rice, M.E. (2009) *Entomology and pest management*. Prentice Hall Higher Education.
- Peltzer, H., & Cabada, S. (2010) Red de evaluación de cultivares de maíz, girasol y sorgo en Entre Ríos. EEA Paraná del INTA. *Serie Extensión*, **57**, 38-39.
- Pencoe, N.L., & Martin, P.B. (1981) Development and reproduction of fall armyworms on several wild grasses. *Environmental Entomology*, **10**(6), 999-1002.
- Pencoe, N.L., & Martin, P.B. (1982) Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larval development and adult fecundity on five grass hosts. *Environmental Entomology*, **11**(3), 720-723.
- Peretti, M. (1990) Aspectos económicos del cultivo de soja. *Jornada de Actualización Profesional de cultivos de cosecha gruesa*. Soja, INTA-Facultad de Agronomía Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata y Consejo Profesional de Ingeniería Agronómica.
- Pereyra, P.C. (1994) Efecto de la edad de las hojas de soja sobre el crecimiento y reproducción de *Rachiplusia nu* (Lepidoptera: Noctuidae). *Ecología Austral*, **4**, 41-47.
- Pereyra, P.C. (1995) Ecología nutricional de la "oruga medidora" *Rachiplusia nu* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, **54**(1-4), 31-40.
- Pereyra, P.C. (1998) Consumo foliar de soja por la "oruga medidora" *Rachiplusia nu* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, **57**(1-4), 41-44.
- Pereyra, P.C. (2002) Evidencia de la competencia intraespecífica en estadios larvales tempranos de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Ecología Austral*, **12**, 143-148.
- Pérez Consuegra, N. (2004) *Manejo Ecológico de Plagas*. CEDAR. Centro de Estudios de Desarrollo Agrario y Rural. Universidad Agraria de La Habana, Cuba.
- Permana, A.D., Johari, A., Putra, R.E., Sastrodihardjo, S., & Ahmad, I. (2012) The influence of trichome characters of soybean (*Glycine max* Merrill) on oviposition preference of soybean pod borer *Etiella zinckenella* Treitschke (Lepidoptera: Pyralidae) in Indonesia. *Journal of Entomology and Nematology*, **4**(3), 15-21.

- Perotti, E., & Gamundi, J.C. (2007) Evaluación del daño provocado por lepidópteros defoliadores en cultivares de soja determinados e indeterminados (GM III, IV, V) con diferentes espaciamientos entre líneas de siembra. INTA EEA Oliveros. Soja. *Para mejorar la producción*, **36**, 119-125.
- Perotti, E. (2010). *Evaluación de los efectos de la defoliación artificial y natural provocada por lepidópteros en el cultivo de soja. Influencia del espaciamiento entre hileras de siembra y cultivares*. Tesis de Maestría para obtener el título de Magister en Entomología. Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo. Universidad Nacional de Tucumán. 150 pp.
- Perotti, E., & Gamundi, J.C. (2014) Aportes para la toma de decisiones de manejo de “oruga bolillera” *Helicoverpa gelotopoeon* (Dyar) en el marco del Manejo Integrado de Plagas. INTA EEA Oliveros. *Para mejorar la producción*, **52**, 171-176.
- Petersen, B., & Snapp, S. (2015) What is sustainable intensification? Views from experts. *Land Use Policy*, **46**, 1-10.
- Pimentel, D. (2005) Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States. *Environment, Development and Sustainability*, **7**, 229–252.
- Piubelli, G.C., Hofmann-Campo, C.B., Moscardi, F., Miyakubo, S.H., & de Oliveira, M.C. (2005) Are chemical compounds important for soybean resistance to *Anticarsia gemmatilis*? *Journal of Chemical Ecology*, **31**, 1509-1524.
- Plath, M., Dorn, S., Riedel, J., Barrios, H., & Mody, K. (2012) Associational resistance and associational susceptibility: specialist herbivores show contrasting responses to tree stand diversification. *Oecologia*, **169**(2), 477-487.
- Plucknett, D.L., & Smith, N.J.H. (1986) Historical perspectives on multiple cropping. *Multiple cropping systems* (ed. Francis, C.A.), pp. 20-39. MacMillan Publishing Company. New York, NY, USA.
- Portillo, H.E., & Pitre, H.N. (1992) Effect of four soybean genotypes on the development and fecundity of *Heliothis virescens* and *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomologist*, **75**(3), 386-390.
- Portillo, H.E., Pitre, H.N., & Meckenstock, D.H. (1996) Oviposition preference of *Spodoptera latifascia* (Lepidoptera: Noctuidae) for sorghum, maize and non-crop vegetation. *Florida Entomologist*, **79**(4), 552-562.
- Poveda, K., Gómez, M.I., & Martínez E. (2008) Diversification practices: their effect on pest regulation and production. *Revista Colombiana de Entomología*, **34**(2), 131-144.
- Prasifka, J.R. (2014) Variation in the number of capitate glandular trichomes in wild and cultivated sunflower germplasm and its potential for use in host plant resistance. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 1-7.
- Preszler, R.W., & Price, P.W. (1995) A test of plant-vigor, plant-stress, and plant-genotype effects on leaf-miner oviposition and performance. *Oikos*, **74**(3), 485-492.
- Price, P.W., Bouton, C.E., Gross, P., McPherson, B.A., Thompson, J.N., & Weis, A.E. (1980) Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **11**, 41-65.
- Price, P.W. (1991) The plant vigor hypothesis and herbivore attack. *Oikos*, **62**(2), 244-251.
- Prieto, S., Murúa, M.G., Juárez, M.L., & Willink, E. (2008) Estudio de la distribución temporal y espacial de poblaciones de *Diatraea saccharalis* Fabricius (Smith) en diferentes plantas

- hospederas de la provincia del norte de Argentina. *En: VII Congreso Argentino de Entomología*, Huerta Grande, Córdoba.
- Prokopy, R.J., Collier, R.H., & Finch, S. (1983) Visual detection of host plants by cabbage root flies. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **34**, 85–89.
- Prokopy, R.J., & Kogan, M. (2003) Integrated pest management. *Encyclopedia of Insects*. (ed. Resh, V.H., & Carde, R.T.), pp. 4-9. New York Academic Press.
- Prokopy, R.J., & Roitberg, B.D. (2007) Arthropod pest behavior and IPM. *Perspectivas in Ecological Theory and Integrated Pest Management*. (ed. Kogan, M., & Jepson, P.) pp. 87-121. Cambridge University Press.
- Pulido, F., & Berthold, P. (2004) Microevolutionary response to climatic change. *Advances in Ecological Research*, **35**, 151–183.
- Pyke, B., Rice, M., Sabine, B., & Zalucki, M.P. (1987) The push-pull strategy behavioural control of *Heliothis*. *Australian Cotton Grower*, **May-July**, 7–9.
- Quintana, F.J., & Abot, A.R. (1987) *Girasol. Lista comentada de los organismos animales que atacan al cultivo en la República Argentina*. Unidad integrada INTA – EEA Balcarce y Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Mar del Plata. 45 pp.
- Rahman, M.H., Stolen, O., & Sorensen, H. (1986) Glucosinolate content in seed from silique at different position of *Brassica campestris*. *Acta Agriculturae Scandinavica*, **36**, 318-324.
- Ramaswamy, S.B., Keung, W., & Baker, G.T. (1987) Sensory cues and receptors for oviposition by *Heliothis virescens*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **43**, 159-186.
- Ramaswamy, S.B. (1988) Host finding by moths: sensory modalities and behaviors. *Journal of Insect Physiology*, **34**, 235-249.
- Rämert, B. (2002) The use of mixed species cropping to manage pests and diseases-theory and practice. UK Organic Research: Proceeding of the COR Conference. (ed. Powell *et al.*), pp. 207-210. 26-28 March, Aberystwyth.
- Ratte, H.T. (1984) Temperature and insect development. *Environmental physiology and biochemistry of insects* (ed. Hoffmann, K.H.), pp. 33-66 Berlin, Springer.
- Rausher, M.D., & Papaj, D.R. (1983) Demographic consequences of discrimination among conspecific host plants by *Battus philenor* butterflies. *Ecology*, **64**, 1402-1410.
- Reboratti, C. (2010) Un mar de soja: la nueva agricultura en Argentina y sus consecuencias. *Revista de Geografía Norte Grande*, **45**, 63-76.
- Reid, J.C., & Greene, G.L. (1973) The soybean looper: pupal weight, development time, and consumption of soybean foliage. *Florida Entomologist*, **56(3)**, 203-206.
- Reinchenbach, N.G., & Stairs, G.R. (1984) Response of the western spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae) to temperature and humidity developmental rates and survivorship. *Environmental Entomology*, **13**, 611-618.
- Reising, C. (2005) Dinámica poblacional de *Grapholita molesta* (Busck): Modelo de simulación y exploración de la táctica de manejo químico. *Tesis doctoral*, Universidad Nacional de Cuyo.
- Renwick, J.A.A. (1989) Chemical ecology of oviposition in phytophagous insects. *Experientia*, **45**, 223-228.

- Renwick, J.A.A., & Chef, F.S. (1994) Oviposition behaviour in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology*, **39**, 377-400.
- Ríos de Saluso, M.L.A. (1993) Plagas. *Consejos prácticos para el manejo del cultivo de lino*. pp. 14-18. INTA – EEA Paraná, Centro Regional Entre Ríos.
- Risch, S.J. (1981) Insect herbivore abundance in tropical monocultures and polycultures: An experimental test of two hypotheses. *Ecology*, **62**(5), 1325-1340.
- Risch, S.J. (1983) Intercropping as cultural pest control: Prospects and limitations. *Environmental Management*, **7**(1), 9-14.
- Risch, S.J., Andow, D., & Altieri, M.A. (1983) Agroecosystems diversity and pest control. Data, tentative conclusions and new research directions. *Environmental Entomology*, **2**, 625-629.
- Rizzo, H.F. (1970) Catálogo de insectos perjudiciales en cultivos de la Argentina. Serie Boletines Técnicos. Centro de Estudiantes de Agronomía de Buenos Aires. *Boletín Técnico*, **9**, s/p.
- Robinson, R.G., Ford, J.H., Luenschen, W.E., Rabas, D.L., Smith, L.J., Warnes, D.D., & Wiersma, J.V. (1980) Response of sunflower to plant population. *Agronomy Journal*, **72**(6), 869-871.
- Rodriguez, S.B.P, Ovrusky, S.M., & Frías, E.A. (1991) Parasitoides encontrados en larvas de *Rachiplusia nu* (Guenée) y *Pseudoplusia includens* (Walk.) (Lep: Noctuidae) en cultivos de soja de la provincia de Tucumán (R. Argentina). En: *II Congreso Argentino de Entomología. I Seminario Latinoamericano de vectores urbanos y animales sinantrópicos. I Reunión Latinoamericana sobre simúlidos*. La Cumbre, Córdoba. Argentina. p. 155.
- Rogers, C.E., Gershenzon, J., Ohno, N., Mabry, T.J., Stipanovic, R.D., & Kreitner, G.L. (1987) Terpenes of wild sunflowers (*Helianthus*): an effective mechanism against seed predation by larvae of the sunflower moth, *Homoeosoma electellum* (Lepidoptera: Pyralidae). *Environmental Entomology*, **16**, 586-592.
- Rogers, C.E. (1992) Insect pests and strategies for their management in cultivated sunflower. *Field Crops Research*, **30**, 301-332.
- Rojas, J.C., Virgen, A., & Cruz-Lopez, L. (2003) Chemical and tactile cues influencing oviposition of a generalist moth, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomology*, **32**, 1386-1392.
- Root, R.B. (1973) Organization of a plant-arthropod association in simple and diverse habitats: the fauna of collards (*Brassica oleraceae*). *Ecological Monographs*, **43**, 95-124.
- Rossiter, M.C. (1991). Maternal effects generate variation in life-history. Consequences of egg weight plasticity in the gypsy moth. *Functional Ecology*, **5**, 386-393.
- Rotem, K., Agrawal, A.A., & Kott L. (2003) Parental effects in *Pieris rapae* in response to variation in food quality: adaptive plasticity across generations? *Ecological Entomology*, **28**, 211-218.
- Roy, M., Brodeur, J., & Cloutier, C. (2002) Relationship between temperature and developmental rate of *Stethorus punctillum* (Coleoptera: Coccinellidae) and its prey *Tetranychus mcdanieli* (Acarina: Tetranychidae). *Environmental Entomology*, **31**(1), 177-187.
- Ruffinelli, A. (1942) La oruga del girasol y sus parásitos naturales. *Revista de la Asociación de Ingenieros Agrónomos de la República Oriental del Uruguay*, **4**, 29-35.

- Ruiz-Montoya, L., & Núñez-Farfán, J. (2009) Natural selection and maternal effects in life history traits of *Brevicoryne brassicae* (Homoptera: Aphididae) on two sympatric closely related hosts. *Florida Entomologist*, **92**(4), 635-644.
- Russo, R., Gamundi, J.C., & Alzogaray, R.A. (2012) Evaluation of pyrethroids toxicity in a laboratory strain and a field population of *Rachiplusia nu* (Lepidoptera: Noctuidae) using two bioassay techniques. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, **71**(1-2), 115-123.
- Russell, E.P. (1989) Enemies Hypothesis: A review of the effect of vegetational diversity on predatory insects and parasitoids. *Environmental Entomology*, **18**(4), 590-599.
- Ryan, J., Ryan, M.F., & Mc Naeidhe, F. (1980). The effect of interrow plant cover on populations of the cabbage root fly, *Delia brassicae* (Wiedemann). *Journal of Applied Ecology*, **17**, 31-40.
- Saberi, A.R. (2018) Comparison of intercropped sorghum- soybean compared to its sole cropping. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, **2**(1), 1-6.
- Sadek, M.M., Hansson, B.S., & Anderson, P. (2010) Does risk of egg parasitism affect choice of oviposition sites by a moth? A field and laboratory study. *Basic and Applied Ecology*, **11**(2), 135-143.
- Salto, C.E. (1979) Isoca medidora del girasol (*Rachiplusia nu* Guenée), biología e ingesta diaria en condiciones naturales. *Reunión anual de actualización técnica en producción de girasol. Sección 8 (Enfermedades y Plagas)* INTA EEA Balcarce. s/p.
- Salto, C.E. (1980) Ensayos para control de isoca medidora (*Rachiplusia nu* Guenée) en girasol con distintos pesticidas. Chacra Experimental de Barrow. *Publicación Técnica*, **17**, 4 pp.
- Saluso, A. (2007) Actividad de vuelo y abundancia relativa de lepidópteros fitófagos en el área de influencia de la EEA Paraná. Campañas 2005/2007. INTA- EEA Paraná. *Serie Extensión*, **45**, 73-76.
- Saluso, A., Ermácora, O., Anglada, M., Toledo, C., & Borghesan, C. (2007) Principales invertebrados plagas de la soja y técnicas utilizadas en la toma de decisiones (campaña agrícola 2006-2007). *Revista Científica Agropecuaria*, **11**(2), 153-158.
- Saluso, A. (2009). Boletines Entomológicos N° 65 al 73. Registro de las capturas de lepidópteros plaga asociados a los cultivos agrícolas. Proyecto Regional Agrícola. Centro Regional Entre Ríos. Estación Experimental Agropecuaria Paraná. Ediciones INTA. Disponible en: <https://inta.gob.ar/busqueda/p/buscar/Bolet%C3%ADn%20Entomol%C3%B3gico>
- Saluso, A. (2010). Boletines Entomológicos N° 77 al 88. Registro de las capturas de lepidópteros plaga asociados a los cultivos agrícolas. Proyecto Regional Agrícola. Centro Regional Entre Ríos. Estación Experimental Agropecuaria Paraná. Ediciones INTA. Disponible en: <https://inta.gob.ar/busqueda/p/buscar/Bolet%C3%ADn%20Entomol%C3%B3gico>
- Sánchez, N.E., & Pereyra, P.C. (1995) Life table of the soybean looper *Rachiplusia nu* (Lepidoptera: Noctuidae) in the laboratory. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, **54**, 89-96.
- Sánchez, N.E., & Luna, M.G. (2008) Parasitism of Lepidoptera defoliators in sunflower and legume crops, and adjacent vegetation in the Pampas of Argentina. *Encyclopedia of Entomology*. (ed. Capinera, J.L.), pp. 2736-2742. Springer Netherlands.

- Santamaria, M.E., Martínez, M., Cambra, I., Grbic, V., & Diaz, I. (2013) Understanding plant defence responses against herbivore attacks: an essential first step towards the development of sustainable resistance against pest. *Transgenic Research*, **22**(4), 697-708.
- Santos, L., & Shields, E.J. (1998) Temperature and diet effect on black cutworm (Lepidoptera: Noctuidae) larval development. *Journal of Economic Entomology*, **91**(1), 267-273.
- Sasal, C., Andriulo, A., Wilson, M., & Portela, S. (2010) Pérdidas de glifosato por drenaje y escurrimiento y riesgo de contaminación de aguas. *Aspectos ambientales del uso de glifosato*. (ed. Camino, M., & Aparicio, V.), pp. 103-114. Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina.
- Sarandón, S.J. (2002) La agricultura como actividad transformadora del ambiente. El Impacto de la Agricultura intensiva de la Revolución Verde. *Agroecología: El camino hacia una agricultura sustentable*. (ed. Sarandón, S.J.), pp. 23-48. Ediciones Científicas Americanas, La Plata.
- Satorre, E.H. (2005) Cambios tecnológicos en la agricultura argentina actual. *Revista Ciencia Hoy*, **15**(87), 24-31.
- Scheirs, J., De Bruyn, L., & Verhagen, R. (2000) Optimization of adult performance determines host choice in a grass miner. *Proceedings of the Royal Society of London*, **B 267**, 2065-2069.
- Scheirs, J., & De Bruyn, L. (2002) Integrating optimal foraging and optimal oviposition theory in plant-insect research. *Oikos*, **96**, 187-191.
- Scheirs, J., De Bruyn, L., & Verhagen, R. (2002) Seasonal changes in leaf nutritional quality influence grass miner performance. *Ecological Entomology*, **27**, 84-93.
- Scheirs, J., Zoebish, T.G., & Schuster, D.J. (2004) Optimal foraging shapes host preference of a polyphagous leafminer. *Ecological Entomology*, **29**, 375-379.
- Scheirs, J., & De Bruyn, L. (2005) Plant-mediated effects of drought stress on host preference and performance of a grass miner. *Oikos*, **108**(2), 371-385.
- Schillmiller, A.L., Last, R.L., & Pichersky, E. (2008) Harnessing plant trichome biochemistry for the production of useful compounds. *The Plant Journal*, **54**, 702-711.
- Schlick-Souza, E.C., Baldin, E.L.L., Morando, R., & Lourenção, A.L. (2017) Antixenosis to *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) among soybean genotypes. *Bragantia*, **77**(1), 124-133.
- Schneiter, A.A., & Miller, J.F. (1981) Description of sunflower growth stages. *Crop Science*, **21**, 901-903.
- Schoonhoven, L.M., Jermy, T., & Van Loon, J.J.A. (1998) *Insect-plant biology*. – Chapman & Hall.
- Schoonhoven, L.M., Van Loon, J.J.A., & Dicke, M. (2005) *Insect-plant biology*. Oxford University Press Inc., New York.
- Schulthess, F., Chabi-Olaye, A., & Gounou, S. (2004) Multi-trophic level interactions in a cassava-maize mixed cropping system in the humid tropics of West Africa. *Bulletin of Entomological Research*, **94**, 261-272.
- Scriber, J.M. (1977) Limiting effects of low leaf-water content on the nitrogen utilization, energy budge, and larval growth of *Hyalophora cecropia* (Lepidoptera: Saturniidae). *Oecologia*, **28**, 269-287.

- Scriber, J.M., & Slansky Junior, F. (1981) The nutritional ecology of immature insects. *Annual Review of Entomology*, **26**, 183-211.
- Secretaría de Agroindustria - Ministerio de Producción y Trabajo. Presidencia de la Nación. (2019) Estimaciones Agrícolas. Serie de estadística agrícola por cultivo, campaña, provincia y departamento de la República Argentina. Disponible en: <http://datosestimaciones.magyp.gob.ar/reportes.php?reporte=Estimaciones>
- Sekhon, H.S., Singh, G., Sharma, P., & Bains, T.S. (2010) Water use efficiency under stress environments. *Climate change and management of cool season grain legume crops*. (ed. Yadav, S.S., Mc Neil, D.L., Redden, R., & Patil, S.A.), pp. 207-227. Springer Press, Dordrecht-Heidelberg-London-New York.
- Sendoya, S.F., Freitas, A.V.L., & Oliveira, P.S. (2009). Egg-laying butterflies distinguish predaceous ants by sight. *American Naturalist*, **174**, 134-140.
- Shaffer, P.L. (1983) Prediction of variation in development period of insects and mites reared at constant temperatures. *Environmental Entomology*, **12**(4), 1012-1019.
- Shah, M.M., Zhang, S., & Liu, T. (2015) Whitefly, host plant and parasitoid: a review on their interactions. *Asian Journal of Applied Science and Engineering*, **4**, 48-61.
- Shanower, G.T., Romeis, J., & Peter, A.J. (1996) Pigeon pea plant trichomes: multiple trophic level interactions. *Biotechnological perspective: in chemical ecology of insects*. (ed. Ananthakrishnan, T.N.), pp. 76-84. Science Publishers, Inc., New Hampshire, USA.
- Shi, P., Ge, F., Sun, Y., & Chen C. (2011) A simple model for describing the effect of temperature on insect developmental rate. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, **14**, 15-20.
- Shikano, I. (2009) *Direct and indirect effects of host plant selection on larval performance in the cabbage looper, Trichoplusia ni*. A Thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in the University of British Columbia (Vancouver) 83 pp.
- Shivaramu, H.S., & Shivashankar, K. (1992) Performance of sunflower (*Helianthus annuus*) and soybean (*Glycine max*) in intercropping with different plant-populations and planting patterns. *Indian Journal of Agronomy*, **37**(2), 231-236.
- Sholes, O.D.V. (2008) Effects of associational resistance and host density on woodland insect herbivores. *Journal of Animal Ecology*, **77**, 16-23.
- Showler, A.T. (2001) *Spodoptera exigua* oviposition and larval feeding preferences for pigweed, *Amaranthus hybridus*, over squaring cotton, *Gossypium hirsutum*, and comparison of free amino acids in each host plant. *Journal of Chemical Ecology*, **27**, 2013-2028.
- Showler, A.T., & Moran, P.J. (2003) Effects of drought stressed cotton, *Gossypium hirsutum* L., on beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner), oviposition, and larval feeding preferences and growth. *Journal of Chemical Ecology*, **29**(9), 1997-2011.
- Showler, A.T. (2004) Stress-induced host plant free amino acids and insects. *Encyclopedia of Entomology* (ed. Capinera, J.L.), pp. 2139-2142. Kluwer Academic, Dordrecht. The Netherlands.
- Showler, A.T., & Castro, B.A. (2010) Influence of drought stress on mexican rice borer (Lepidoptera: Crambidae) oviposition preference in sugarcane. *Crop Protection*, **28**, 722-727.

- Showler, A.T. (2012) Drought and arthropod pest of crops. *Drought: New Research*. (ed. Neves, D.F., & Sanz, J.D.), pp. 131-154. Nova Science New York, USA.
- Showler, A.T. (2013) Water deficit stress- Host plant nutrient accumulations and associations with phytophagous arthropods. *Abiotic Stress - Plant Responses and Applications in Agriculture* (ed. Vahdati, K., & Leslie, C.), pp. 387- 410. InTech.
- Singh, T., Bhat, M.M., & Khan, M.A. (2011). Critical analysis of correlation and heritability phenomenon in the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Advances in Bioscience and Biotechnology*, **2**, 347-353.
- SIBER, Sistema Integrado para el seguimiento y estimación de la producción de cereales y oleaginosas. Bolsa de Cereales de Entre Ríos (2016) *Informe Superficie sembrada con girasol en Entre Ríos- Campaña 2015-2016*. Disponible en: <http://www.bolsacer.org.ar/Fuentes/siberd.php?Id=784>
- SIBER, Sistema Integrado para el seguimiento y estimación de la producción de cereales y oleaginosas. Bolsa de Cereales de Entre Ríos (2018) *Informe Producción de girasol en Entre Ríos- Campaña 2017-2018*. Disponible en: <http://www.bolsacer.org.ar/Fuentes/siberd.php?Id=990>
- SIBER, Sistema Integrado para el seguimiento y estimación de la producción de cereales y oleaginosas. Bolsa de Cereales de Entre Ríos (2018) *Informe Superficie sembrada con soja- Campaña agrícola. 2017-2018*. Disponible en: <http://www.bolsacer.org.ar/Fuentes/siberd.php?Id=995>
- Sileshi, G. (2006) Selecting the right statistical model for analysis of insect count data by using information theoretic measures. *Bulletin of Entomological Research*, **96**, 479-488.
- Silva, T.R.F.D., Almeida, A.C.S., Moura, T.L., Silva, A.R., Freitas, S.S., & Jesus, F.G. (2016) Effect of the flavonoid rutin on the biology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Scientiarum. Agronomy Journal*, **38**, 165-170.
- Simmonds, M.S.J., Blaney, W.M., Mithem, R., Birch, A.N.E., & Lewis, J. (1994) Behavioural and chemosensory responses of the turnip root fly (*Delia floralis*) to glucosinolates. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **71**, 41-57.
- Simpson, S.J., & Abisgold, J.D. (1985) Compensation by locust for changes in dietary nutrients: behavioral mechanism. *Physiological Entomology*, **10**, 43-452.
- Simpson, S.J., & Simpson, C.L. (1990) The mechanism of nutritional compensation by phytophagous insects. *Insect Plant Interactions*. (ed.. Bernays, E.A), pp. 111-160. Boca Raton: CRC Press.
- Smallegange, R.C., Everaarts, T.C., & Van Loon, J.J.A. (2006) Associative learning of visual and gustatory cues in the large cabbage white butterfly, *Pieris brassicae*. *Animal Biology*, **56**, 157-172.
- Smith, H.A., & Mc Sorley, R. (2000) Intercropping and pest management: a review of major concepts. *American Entomologist*, **46**, 154-161.
- Smith, M. (2005) Introduction. *Plant resistance to Arthropods: Molecular and conventional approaches*, pp. 1-18. Springer, Netherlands.
- Slansky, F., & Rodriguez, J.G. (1987) Nutritional Ecology of Insects, Mites, Spiders, and Related Invertebrates. New York Wiley.
- Soler, R., Schaper, S.V., Bezemer, T.M., Cortesero, A.M., Hoffmeister, T.S., Van der Putten, W.H., Vet, L.E.M., & Harvey, J.A. (2009). Influence of presence and spatial

- arrangement of belowground insects on host-plant selection of aboveground insects: a field study. *Ecological Entomology*, **34**(3), 339-345.
- Soler, R., Pineda, A., Li, Y., Ponzio, C., Van Loon, J.J., Weldegergis, B.T., & Dicke, M. (2012) Neonates know better than their mothers when selecting a host plant. *Oikos*, **121**(12), 1923-1934.
- Songa, J.M., Jinag, N., Schulthess, F., & Omwega, C. (2007) The role of intercropping different cereal species in controlling lepidopteran stemborers on maize in Kenya. *Journal of Applied Entomology*, **131**(1), 40-49.
- Sosa, M.A. (1990) Manejo integrado de plagas de girasol. INTA- EEA Reconquista. *Información para extensión*, **39**, 1-7.
- Southwood, T.R.E. (1978) The insects/plant relationship an evolutionary perspective. *Insects/plant relationships*. (ed. Van Emden, H.F.), pp. 3-32. Oxford: Blackwell.
- Spitters, C.J.T. (1983) An alternative approach to the analysis of mixed cropping experiments. 1. Estimation of competition effects. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, **31**, 1-11.
- Spitzer, B.W. (2004) Maternal effects in the soft scale insect *Saissetia coffeae* (Hemiptera: Coccidae). *Evolution*, **58**, 2452-2461.
- Spring, O. (2000) Chemotaxonomy based on metabolites from glandular trichomes. *Advances in Botanical Research*, **31**, 153-174.
- Stamp, N.E. (1990) Growth versus molting time of caterpillars as a function of temperature, nutrient concentration and the phenolic rutin. *Oecologia*, **82**, 107-113.
- Stamp, N.E., & Horwath, K.L. (1992) Interactive effects of temperature and concentration of the flavonol rutin on growth, molt and food utilization of *Manduca sexta* caterpillars. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **64**(2), 135-150.
- SAS, Statistical Analysis System (2004). Online Doc[®] 9.1.3. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Stephens, D.W., & Krebs, J.R. (1986) Foraging theory. Princeton University Press, New Jersey.
- Stavridis, D.G., & Sovopoulou-Soultani, M. (1998) Larval performance on and oviposition preference for known and potential hosts by *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). *European Journal of Entomology*, **95**, 55-63.
- Stavropoulos, A., & Caroni, C. (2008) Rank test statistics for unbalanced nested designs. *Statistical Methodology*, **5**, 93-195.
- Stupino, S.A., Iermanó, M.J., Gargoloff, N.A., & Bonicatto, M.M. (2014) La biodiversidad en los agroecosistemas. *Agroecología: bases teóricas para el diseño y manejo de Agroecosistemas sustentables* (ed. Sarandón, S.J. & Flores, C.C.), pp. 131-158. Universidad Nacional de la Plata, La Plata.
- Subramanyam, B., & Hagstrum, D.W. (1993) Predicting development times of six stored-product moth species (Lepidoptera: Pyralidae) in relation to temperature, relative humidity, and diet. *European Journal of Entomology*, **90**, 51-64.
- Sweeney, B.W., & Vannote, R.L. (1981) *Ephemerella* mayflies of white clay creek: bioenergetics and ecological relationships among six coexisting species. *Ecology*, **62**, 1353-1369.
- Sweeney, B.W., Vannote, R.L., & Dodds, P.J. (1986) Effects of temperature and food quality on growth and development of a mayfly, *Leptophlebia intermedia*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **43**(1), 12-18.

- Syed, T.S., & Abro, G.H. (2003) Effect of brassica vegetable host on biology and life table parameters of *Plutella xylostella* under laboratory conditions. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **6**(22), 1891-1896.
- Takakura, K.I. (2004) Variation in egg size within and among generations of the bean weevil, *Bruchidius dorsalis* (Coleoptera, Bruchidae): effects of host plant quality and paternal nutritional investment. *Annals of the Entomological Society of America*, **97**(2), 346-352.
- Tariq, M., Wright, D.J., Rossiter, J.T., & Staley, J.T. (2012) Aphids in a changing world: testing the plant stress, plant vigour and pulsed stress hypotheses. *Agricultural and Forest Entomology*, **14**, 177-185.
- Taylor, L.R. (1984) Assessing and Interpreting the Spatial Distributions of Insect Populations. *Annual Review of Entomology*, **29**, 321-357.
- Téllez-Rodríguez, P., Raymond, B., Morán-Bertot, I., Rodríguez-Cabrera, L., Wright, D.J., Borroto, C.G., & Ayra-Pardo, C. (2014) Strong oviposition preference for *Bt* over non-*Bt* maize in *Spodoptera frugiperda* and its implications for the evolution of resistance. *BioMed Central Biology*, **12**(1), 1-10.
- Terblanche, J.S., Karsten, M., Mitchell, K.A., Barton, M.G., & Gibert, P. (2015) Physiological variation of insects in agricultural landscapes: potential impacts of climate change. *Climate Change and Insect Pests*. (ed. Björkman, C., & Niemelä, P.), pp. 92-118. Cabi Climate Change.
- Terry, L.I., Bradley Jr., J.R., & Van Duyn, J.W. (1987) Population dynamics of *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae) as influenced by selected soybean cultural practices. *Environmental Entomology*, **16**, 327-245.
- Thompson, J.N. (1988) Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **47**, 3-14.
- Thompson, J.N., & Pellmyr, O. (1991) Evolution of oviposition behavior and host preference in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology*, **36**, 65-89.
- Tian, D., Tooker, J., Peiffer, M., Chung, S.H., & Felton, G.W. (2012) Role of trichomes in defence against herbivores: comparison of herbivore response to woolly and hairless trichome mutants in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Planta*, **236**, 1053-1066.
- Tillman, P.G., & Lambert, L. (1995) Influence of soybean pubescence on incidence of the corn earworm and the parasitoid, *Microplitis croceipes*. *Southwestern Entomologist*, **29**(2), 181-185.
- Tingle, F.C., Heath, R.R., & Mitchell, E.R. (1989) Flight response of *Heliothis subflexa* (Gn.) females (Lepidoptera: Noctuidae) to an attractant from groundcherry, *Physalis angulata* L. *Journal of Chemical Ecology*, **15**(1), 221-231.
- Tittonell, P. (2014) Ecological intensification of agriculture sustainable by nature. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, **8**, 53-61.
- Tofangsazi, N., Kheradmand, K., Shahrokhi, S., & Talebi, A.A. (2012) Effect of different constant temperatures on biology of *Schizaphis Graminum* (Rondani) (Hemiptera: Aphididae) on barley, *Hordeum vulgare* L. (Poaceae) in Iran. *Journal of Plant Protection Research*, **52**(3), 319-323.
- Torreta, J.P., Medan, D., Roig Alsina, A., & Montaldo, N.H. (2010) Visitantes forales diurnos del girasol (*Helianthus annuus*, Asterales: Asteraceae) en la Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, **69**(1-2), 17-32.

- Tosti, G., & Thorup-Kristensen, K. (2010) Using coloured roots to study root interaction and competition in intercropped legumes and non-legumes. *Journal of Plant Ecology*, **3**, 191-199.
- Truffer, I., Saluso, A., & Nolla, D. (2011) La dinámica del campo científico tecnológico en la construcción del conocimiento local. La soja en Entre Ríos. *Revista PAMPA*, **07**, 159-186.
- Trumper, E.V., Edelstein, J.D., Linares, M.A., & Plazas, M.C. (2004) Desarrollo de protocolo de muestreo para estimación de abundancia de la oruga medidora *Rachiplusia nu* en el cultivo de soja. *Serie Modelos Bioeconómicos Para la Toma de Decisiones de Manejo de Plagas. Información Técnica*. INTA EEA Manfredi, **3(I)**, 1-4.
- Underwood, D.L.A. (1994) Intraspecific variability in host plant quality and ovipositional preferences in *Eucheira socialis* (Lepidoptera: Pieridae). *Ecological Entomology*, **19**, 245-256.
- Underwood, N., & Rausher, M.D. (2000). The effects of host-plant genotype on herbivore population dynamics. *Ecology*, **81**, 1565-1576.
- Unsicker, S.B., Oswald, A., Köhler, G., & Weisser, W.W. (2008) Complementarity effects through dietary mixing enhance the performance of a generalist insect herbivore. *Oecologia*, **156(2)**, 313-324.
- Urra, F., & Apablaza, J. (2005) Temperatura base y constante térmica de desarrollo de *Copitarsia decolora* (Lepidoptera: Noctuidae). *Ciencia e Investigación Agraria*, **32(1)**, 19-26.
- Vadez, V., Kholova, J., Choudhary, S., Zindy, P., Terrier, M., Rishnamurth, L., Kumar, P.R. & Turner, N.C. (2011) Responses to increased moisture stress and extremes: whole plant response to drought under climate change. *Crop adaptation to climate change*. (ed. Yadav, S.S., Redden, R., Hatfield, J.L., Lotze-Campen, H., & Hall, A.E.), pp. 186-197. Chichester-Wiley-Blackwell.
- Valladares, G., & Lawton, J.H. (1991) Host-plant selection in the holly leaf-miner: does mother know best?. *The Journal of Animal Ecology*, **60(1)**, 227-240.
- Valverde, L. (2007) Abundancia y distribución de los huevos de las principales especies de lepidópteros noctuidos plagas en el cultivo de soja en Tucumán, Argentina. *Boletín Sanidad Vegetal-Plagas*, **33**, 163-168.
- Valverde, L., & Virla, E. (2007) Parasitismo natural de huevos de las principales especies de Noctuidae (Lepidoptera) plagas en el cultivo de soja en Tucumán, Argentina. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, **33**, 469-476.
- Valverde, L., Querino, R.B., & Virla, E.G. (2014) First record of *Rachiplusia nu* (Lepidoptera: Noctuidae) as host of the egg parasitoid *Trichogramma bruni* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Acta Zoologica Lilloana*, **58(2)**, 248-250.
- Valverde, L., Virla, E.G., & Van Nieuwenhove, G. (2017) Distribución de los huevos de lepidópteros defoliadores (Lepidoptera: Noctuoidea) en plantas de soja y su relación con la fenología del cultivo. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo*, **49(2)**, 319-330.
- Van Asch, M., Julkunen-Tiito, R., & Visser, M.E. (2010) Maternal effects in an insect herbivore as a mechanism to adapt to host plant phenology. *Functional Ecology*, **24**, 1103-1109.
- Van Nieuwenhove, G.A., Frías, E.A., & Virla, E.G. (2016) Effects of temperature on the development, performance and fitness of the corn leafhopper *Dalbulus maidis* (DeLong)

- (Hemiptera: Cicadellidae): implications on its distribution under climate change. *Agricultural and Forest Entomology*, **18**(1), 1-10.
- Vandermeer, J. (1989) *The ecology of intercropping*. Cambridge University Press, Cambridge USA.
- Vannote, R.L., & Sweeney, B.W. (1980) Geographic analysis of thermal equilibria: a conceptual model for evaluating the effect of natural and modified thermal regimes on aquatic insect communities. *American Naturalist*, **115**, 667-695.
- Van Rijn, P.C., Mollema, C., & Steenhuis-Broers, G.M. (1995) Comparative life history studies of *Frankliniella occidentalis* and *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae) on cucumber. *Bulletin of Entomological Research*, **85**(2), 285-297.
- Van Wolfswinkel, M. (2006). Intercropping of Annual Foodcrops. *Agrobrief*, **4**, 1-10.
- Ventura, C., Núñez, M., Miret, N., Lamas, D.M., Randi, A., Venturino, A., Rivera, E., & Cocca, C. (2012) Differential mechanisms of action are involved in chlorpyrifos effects in estrogen-dependent or independent breast cancer cells exposed to low or high concentrations of the pesticide. *Toxicology letters*, **213**(2), 184-193.
- Vera, M.L., & Nasca, A.J. (1991) Entomopatógenos encontrados en insectos plagas de soja en la Pcia. de Tucumán (R. Argentina). En: *II Congreso Argentino de Entomología. I Seminario Latinoamericano de vectores urbanos y animales sinantrópicos. I Reunión Latinoamericana sobre simúlidos*. La cumbre, Córdoba. Argentina. p. 259.
- Videla, M., Valladares, G.R., & Salvo, A. (2012) Choosing between good and better: optimal oviposition drives host plant selection when parents and offspring agree on best resources. *Oecologia*, **169**, 743-751.
- Viglizzo, E.F., Carreño, L.V., Pereyra, H., Ricard, F., Clatt, J., & Pincén, D. (2010) Dinámica de frontera agropecuaria y cambio tecnológico. *Expansión de la frontera agropecuaria en Argentina y su impacto ecológico-ambiental*. (ed. Viglizzo, E.F., & Jobbágy, E.), pp. 9-16. Ediciones INTA, Buenos Aires. Argentina.
- Villaamil Lepori, E.C., Mitre, G.B., & Nassetta, M. (2013) Situación actual de la contaminación por plaguicidas en Argentina. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, **29**, 25-43.
- Visser, J.H. (1986) Host odor perception in phytophagous insects. *Annual Review of Entomology*, **31**, 121-144.
- Visser, J.H. (1988). Host-plant finding by insects: orientation, sensory input and search patterns. *Journal of Insect Physiology*, **34**(3), 259-268.
- Visser, M.E., & Holleman, L.J.M. (2001) Warmer springs disrupt the synchrony of oak and winter moth phenology. *Proceedings of the Royal Society B*, **268**, 289-294.
- Vitti, D., Salto, C., Sosa, M.A., & Luiselli, S. (2008) *Insectos en girasol. Polinizadores, Fitófagos y Entomófagos*. Ediciones INTA 54 p.
- Wagner, G.J. (1991) Secreting glandular trichomes: more than just hairs. *Plant Physiology*, **96**, 675-679.
- Wagner, T.L., Olson, R.L., & Willers, J.L. (1991) Modeling arthropod development time. *Journal of Agriculture Entomology*, **8**(4), 251-270.
- Waladde, S.M., Kahoro, H.M., Kokwaro, E.D., & Chimtawi, M. (1985). Responses of *Chilo partellus* to material obtained from susceptible and resistant maize cultivars. Electrophysiology and behaviour. *Insect Science and Its Application*, **6**, 341-347.

- Waldbauer, G.P., & Friedman, S. (1991). Self-selection of optimal diets by insects. *Annual Review of Entomology*, **36**, 43-63.
- Wale, M., Schulthess, F., Kairu, E.W., & Omwega, C.O. (2007) Effect of cropping systems on cereal stemborers in the cool-wet and semi-arid ecozones of the Amhara region of Ethiopia. *Agricultural and Forest Entomology*, **9(2)**, 73-84.
- Waller, D.A., & Jones, C.G. (1989) Measuring herbivory. *Ecological Entomology*, **14(4)**, 479-481.
- Wang, Z.Y., Qin, S.Y., Xiao, L.F. & Liu, H. (2014) Effects of temperature on development and reproduction of *Euseius nicholsi* (Ehara & Lee). *Systematic & Applied Acarology*, **19(1)**, 44-50.
- Wang, X., Hu, S.J., Zhang, Z.Y., Geng, Y.P., & Bai, X. (2015) Oviposition preference and offspring performance of *Mechoris ursulus* (Coleoptera: Attelabidae) in *Cyclobalanopsis glaucoides* (Fagales: Fagaceae) and *Quercus franchetii* (Fagales: Fagaceae) in Central Yunnan, China. *Journal of Insect Science*, **15(1)**, 19.
- Waters, D.J., & Barfield, C.S. (1989) Larval development and consumption by *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae) fed various legume species. *Environmental Entomology*, **18(6)**, 1006-1010.
- Weldegergis, B.T., Zhu, F., Poelman, E.H., & Dicke, M. (2015) Drought stress affects plant metabolites and herbivore preference but not host location by its parasitoids. *Oecologia*, **177**, 701-713.
- Werker, E. (2000) Trichome diversity and development. *Advances in Botanical Research*, **31**, 1-35.
- White, T.C.R. (1969) An index to measure weather-induced stress of trees associated with outbreaks of psyllids in Australia. *Ecology*, **50(5)**, 905-909.
- White, J.A., & Whitham, T.G. (2000) Associational susceptibility of cottonwood to a box elder herbivore. *Ecology*, **81(7)**, 1795-1803.
- Whitman, D.W., Blum, M.S., & Slansky Junior, F. (1994) Carnivory in phytophagous insects. *Functional dynamics of phytophagous insects*. (ed. Ananthakrisnan T.N.), pp. 161-205. New Delhi: Oxford & IBH.
- Wiesenborn, W.D., & Trumble, J.T. (1988) Optimal oviposition by the corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae) on whorl-stage sweet corn. *Environmental Entomology*, **17(4)**, 722-726.
- Wiklund, C. (1984) Egg-laying patterns in butterflies in relation to their phenology and the visual apparency and abundance of their host plants. *Oecologia*, **63**, 23 – 29.
- Wise, M.J., & Weinberg, A.M. (2002) Prior flea beetle herbivory affects oviposition preference and larval performance of a potato beetle on their shared host plant. *Ecological Entomology*, **27(1)**, 115-122.
- Wise, M.J., Partelow, J.M., Everson, K.J., Anselmo, M.K., & Abrahamson, W.R. (2008) Good mothers, bad mothers, and the nature of resistance to herbivory in *Solidago altissima*. *Oecologia*, **155**, 257-266.
- Wobbrock, J.O., Findlater, L., Gergle, D., & Higgins, J.J. (2011) The aligned rank transform for nonparametric factorial analyses using only Anova procedures. *CHI 2011 Session: Research Methods*. Vancouver, BC, Canada: 143-146.

- Woods, H.A. (1999) Patterns and mechanisms of growth of fifth-instar *Manduca sexta* caterpillars following exposure to low or high-protein food during early instars. *Physiological and Biochemical Zoology*, **72**, 445-454.
- WCED, World Commission on Environment and Development (1987) *Our common future*. Oxford Univ. Press, Oxford.
- Xue, H., & Yang, X. (2008) Common volatiles are major attractants for neonate larvae of the specialist flea beetle *Altica koreana* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Naturwissenschaften*, **95**, 639–645.
- Yamaga, Y., & Ohgushi, T. (1999) Preference-performance linkage in an herbivorous lady beetle: consequences of variability of natural enemies. *Oecologia*, **119**, 183-190.
- Yang, Y., Stamp, N.E., & Osier, T.L. (1996) Effects of temperature, multiple allelochemicals and larval age on the performance of a specialist caterpillar. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **79**(3), 335-344.
- Yurk, B.P., & Powell, J.A. (2010) Modelling the effects of developmental variation on insect Phenology. *Bulletin of Mathematical Biology*, **72**(6), 1334-1360.
- Yuwariah, Y., Supriatna, J., Nuraini, A., Indriani, N.P., Makkulawu, A.T., & Ruswandi, D. (2018) Screening of Maize Hybrids under Maize/Soybean Intercropping Based on Their Combining Abilities and Multiple Cropping Components. *Asian Journal of Crop Science*, **10**, 93-99.
- Zehnder, C.B. (2006) Influences of plant quality and maternal environment on the performance and population dynamics of a phloem-feeding insect herbivore. A Dissertation Submitted to the Graduate Faculty of The University of Georgia in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree. Doctor of Philosophy. Athens, Georgia. 192 pp.
- Zehnder, G., Gurr, G.M., Kuhne, S., Wade, M. R, Wratten, S.D., & Wy, E. (2007) Arthropod pest management in organic crops. *Annual Review of Entomology*, **52**, 57-80.
- Zerbino, M.S., & Ribeiro, A. (2000) Manejo de plagas en pasturas y cultivos. Unidad de Agronegocios y Difusión del INIA (eds.). *Serie Técnica*, **112**, 63-64.
- Zerbino Bardier, M.S. (2005) Evaluación de la densidad, biomasa y diversidad de la macrofauna del suelo en diferentes sistemas de producción. *Tesis de Postgrado* para obtener el título de Magister en Ciencias Ambientales. Universidad de la República. Facultad de Ciencias Ambientales. Montevideo. Uruguay. 100 pp.
- Zhang, F., & Li, L. (2003) Using competitive and facilitative interactions in intercropping systems enhances crop productivity and nutrient-use efficiency. *Plant Soil*, **248**, 305-312.